

长链非编码RNA与心血管疾病的 关系

钱海霞 季林丹* 徐 进*

(宁波大学医学院, 宁波 315211)

摘要 心血管疾病是当今全球人群的首要死因,也是引起期望寿命损失最主要的疾病。大量研究用流行病学、病理生理学、分子生物学等方法揭示该类疾病的发病机制,并取得了重大进展。近年来,随着遗传学和生物信息技术的飞速发展,越来越多的研究发现长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)与心血管疾病的发生、发展、诊断和治疗密切相关。该文就lncRNA与心血管疾病的关系作一综述,以期帮助读者了解lncRNA在心血管疾病发生发展中的作用。

关键词 长链非编码RNA; 心血管疾病; 表观遗传学; 发病机制

Relationship Between Long Non-coding RNA and Cardiovascular Disease

Qian Haixia, Ji Lindan*, Xu Jin*

(Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315211, China)

Abstract Cardiovascular disease is the leading cause of human death in the world, which is also the major cause for loss of life expectancy. A great number of studies have been carried out to delineate the underlying mechanisms through epidemiological, pathophysiological or molecular methods, and have made significant progress. With the rapid development of genetic and bioinformatical technologies, recent studies have found that the long non-coding RNA (lncRNA) is closely associated with the development, prognosis, diagnosis and treatment of cardiovascular disease. This review summarizes the current state of knowledge about the association between lncRNA and cardiovascular disease, which may help the readers understand the important roles of lncRNA in the pathogenesis of cardiovascular disease.

Keywords lncRNA; cardiovascular disease; epigenetics; pathogenesis

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)是一组心脏和血管疾患,主要包括冠心病(心肌供血血管的疾病)、脑血管疾病(大脑供血血管的疾病)、血压异常升高或降低(高血压、低血压)、周围动脉血管疾病、风湿性心脏病、先天性心脏病和心力衰竭等。心血管疾病已成为当今世界范围内的重大公共卫生问题。预计到2030年,全球死于心血管疾病的人数将上升到2 330万,而用于心血管疾病的花费

可能将高达20万亿元^[1]。这其中以局部缺血性心脏病(ischemic heart disease, IHD)和中风(stroke)为首要死因,分别贡献了5.2%和4.1%的总伤残调整寿命年(disability adjusted life years, DALYs)^[2]。全球范围内的心血管疾病年龄标准化死亡率如图1所示。

由于心血管疾病的严重危害,已从流行病学、病理生理学、分子生物学等方面对心血管疾病的发病机制开展了大量研究。随着人类基因组计划的

收稿日期: 2015-05-11 接受日期: 2015-07-06

国家自然科学基金(批准号: 81402747)、浙江省自然科学基金(批准号: LQ13C060001)和浙江省教育厅科研项目(批准号: Y201224146)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-87609951, E-mail: jilindan@nbu.edu.cn; Tel: 0574-87609603, E-mail: xujin1@nbu.edu.cn

Received: May 11, 2015 Accepted: July 6, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81402747), the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.LQ13C060001) and Scientific Research Fund of Zhejiang Provincial Education Department (Grant No.Y201224146)

*Corresponding authors. Tel: +86-574-87609951, E-mail: jilindan@nbu.edu.cn; Tel: +86-574-87609603, E-mail: xujin1@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2015-10-21 14:51:51 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20151021.1451.004.html>

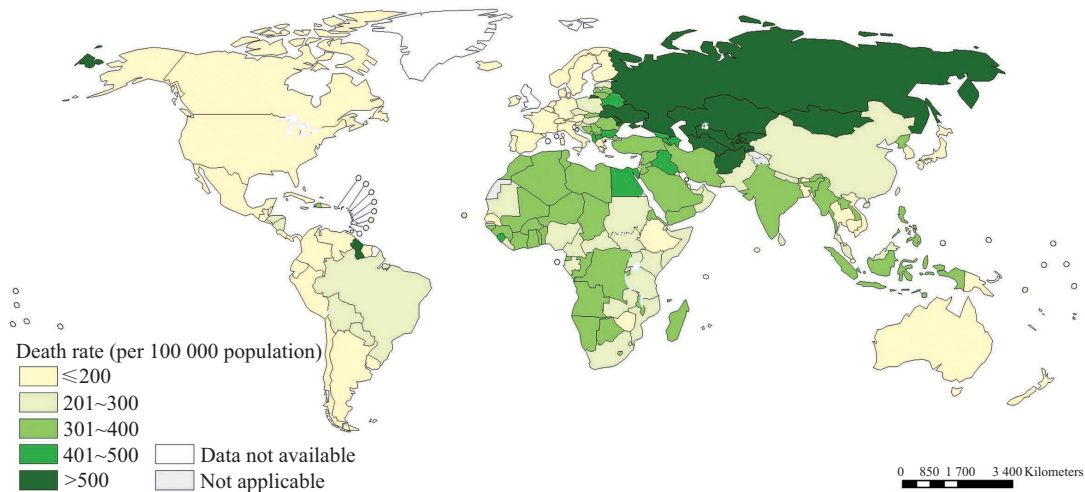


图1 不同国家心血管疾病年龄标准化死亡率(世界卫生组织提供)^[3]

Fig.1 Age-standardized cardiovascular disease mortality rates by world area (data from WHO)^[3]

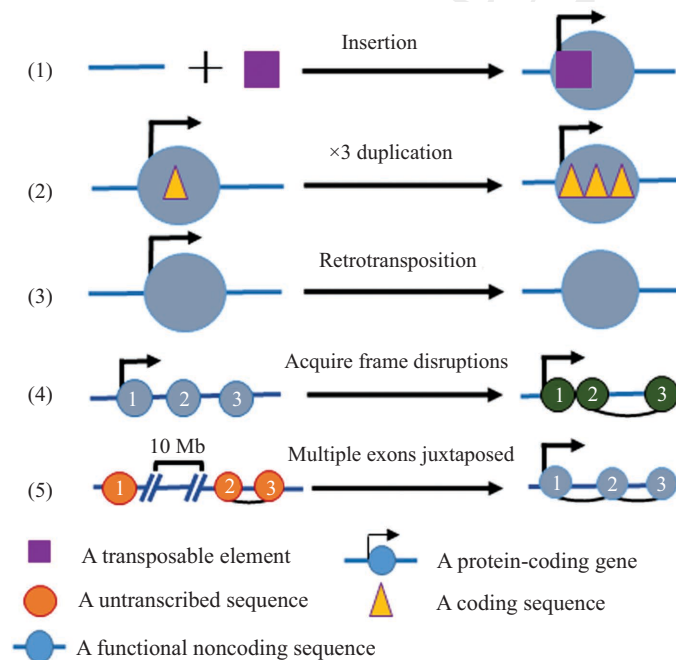


图2 LncRNA可能的起源类型(根据参考文献[7]修改)

Fig.2 Possible origins of long non-coding RNA (modified from reference [7])

完成, 遗传学研究发现了许多蛋白质编码基因的变异与人类心血管疾病之间存在一定的相关性^[4]。越来越多的研究发现, 非编码RNA(non-coding RNA)同样起着至关重要的作用^[5]。作为非编码RNA家族的重要组成部分, 长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)参与调控心血管疾病的机制是当前本领域的研究热点。本文就lncRNA与心血管疾病的关系作一综述, 以期对本领域的研究者有所帮助。

1 长链非编码RNA概述

LncRNA是指位于细胞核或细胞质内的一类

转录本长度超过200个核苷酸的非编码RNA分子, 目前在人体组织中已发现4万余条lncRNA。根据lncRNA在基因组上的位置, 可以将其分为sense、antisense、bidirectional、intronic和intergenic这5种类型^[6]。目前, 公认的lncRNA起源主要有以下几种^[7](图2): (1)一段基因序列中插入一个转座子成分, 形成功能型的非编码RNA; (2)由较小的非编码基因组序列多次复制产生相邻的多个lncRNA; (3)非编码基因复制过程中发生反移位形成另一个功能型的非编码逆转录基因; (4)编码蛋白质的基因序列获得邻近片段序列, 从而转变成为功能型的lncRNA序列; (5)

两个非转录的基因序列与另一个相距较远且独立的基因紧靠一起并串联从而产生含有多个外显子的lncRNA。

lncRNA起初被认为由RNA聚合酶II或III催化转录合成的副产物, 经过选择性剪切、5'端加帽和多腺苷酸化加工而成熟, 序列保守性也比较差, 不具有生物学功能。进一步的研究发现, lncRNA能以RNA的形式通过多种途径和分子机制来调控靶基因的表达^[8]: (1)参与表观遗传学调控。lncRNA可通过与染色质直接结合并发生相互作用, 从而导致部分基因表达的沉默或激活, 或者通过去乙酰化酶引起组蛋白修饰而造成基因表达沉默。lncRNA还可通过招募染色质修饰复合体或转录因子发挥类似脚手架功能使多种蛋白质共同作用, 或者作为诱饵分子置换转录因子及其他转录复合物使其与染色质分离, 从而介导周围的基因沉默^[9]。(2)直接参与基因转录调控。lncRNA可直接作为调控因子和共调控因子形成转录起始复合体来发挥调控基因表达的功能, 也可通过与干扰启动子选择相关的抑制性复合物相互作用, 封阻启动子区域来调控RNA聚合酶II的活性从而干扰基因的表达, 还能通过与RNA结合蛋白的相互作用, 将其定位到启动子区域而实现基因表达调控^[8,10]。(3)参与转录后调控。lncRNA主要是与mRNA互补配对形成双螺旋复合物或与核糖核蛋白复合物结合形成RNA二聚体, 通过掩蔽mRNA的顺式作用元件, 干扰mRNA的剪接、翻译和转化过程, 并作为小ncRNA的转录前体, 从而调控靶基因的表达^[11]。此外, lncRNA还参与了细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡、细胞代谢以及机体免疫在内的所有生命活动的调节和控制, 在机体内扮演着至关重要的角色。如果lncRNA调节作用发生异常, 则可能会导致机体功能紊乱, 甚至会导致疾病发生^[12]。

2 lncRNA与心血管疾病

已有研究表明, 一系列的lncRNA参与了心脏的发育过程, 例如, miRNA-1和miRNA-133是由同一个双向基因位点复制而来并参与肌肉的增殖和分化^[13]。而相对于microRNA和蛋白编码序列的研究, 目前关于lncRNA的研究还处在起步阶段, 尤其在心血管系统中的作用知之甚少。虽然, 对lncRNA的功能和作机制尚不完全明确, 但关于lncRNA参与心血管疾病的发生和发展的研究报道不断涌现^[14]。

2.1 lncRNA与心血管疾病的发生和发展

2.1.1 lncRNA与心肌细胞的生长和分化 lncRNA表达量的变化可影响到胚胎干细胞的功能状态和分化特性^[15], 对于胚胎中胚层细胞发育成为心肌细胞过程中所必不可少的。*Bvht*是由590个核苷酸组成的lncRNA, Klattenhoff等^[16]研究发现, lncRNA-*Bvht*在小鼠的胚胎干细胞中就已经开始表达, 在成年小鼠的心脏组织中则大量表达。如果敲除小鼠胚胎干细胞中的lncRNA-*Bvht*, 那么其分化成有搏动功能的心肌细胞的数量会明显减少, 且心肌细胞标记物——肌钙蛋白T水平也会明显降低, 但lncRNA-*Bvht*的敲除并不会影响小鼠胚胎干细胞向其他组织分化的能力, 这表明, lncRNA-*Bvht*参与了心肌细胞的分化过程且能特异性地调控胚胎干细胞定向分化为心肌细胞^[16-17]; lncRNA-*Bvht*在调控胚胎干细胞的分化和心脏的早期发育过程中的作用可能与*MesP1*基因有关。*MesP1*是心脏细胞分化的调节基因, 负责启动心脏发育所需的数百个基因; 是胚胎发育成心脏各种类型细胞的关键转录因子^[18-19]。因此, *MesP1*失活的胚胎可形成心脏二分叉, *MesP1*缺失的胚胎还可致心脏中胚层迁移缺陷和腹侧不能融合^[20]。*Fendrr*是位于小鼠侧中胚层, 邻近*Foxfla*基因上游且可顺式调控*Foxfla*表达的特异性lncRNA^[21]。lncRNA-*Fendrr*可募集PRC2和TRXG/MLL复合物, 在涉及心脏中胚层分化的转录因子(例如*Foxf1*、*Irx3*和*Pitx2*)的启动子聚集引起H3K27me3水平升高, 导致基因表达的抑制。缺乏lncRNA-*Fendrr*的胚胎显示心脏中胚层分化的多种转录因子(例如*Nkx2.5*和*Gata6*)启动子区的H3K4me3水平升高, 引起基因表达激活。这表明, lncRNA-*Fendrr*在心脏的发育过程中是通过抑制或激活关键基因的表达, 从而调控心肌细胞的分化^[9,21]。生物信息学研究发现, lncRNA-AK143260的相关基因*Map3k7*编码的蛋白质是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族的成员, 广泛参与细胞内的信号转导。lncRNA-AK143260在心脏发育中的作用可能与*Map3k7*调节心脏的发育有关, lncRNA-AK143260缺失将会导致胚胎干细胞相关的心肌细胞丧失搏动能力。lncRNA-RoR可通过调控核心转录因子, 例如*Oct4*、*Sox2*和*Nanog*的表达水平, 进而调节诱导多功能干细胞的重新编程过程^[22]。这提示, 有必要对lncRNA是否参与心肌细胞再生或者促进细胞的重新编程开展深入研究。

2.1.2 LncRNA与扩张性心肌病 LncRNA与扩张性心肌病也有着密切联系, 其中的典型代表为类固醇受体RNA激活因子(steroid receptor RNA activator, SRA), 它是多功能基因转录的共调节因子, 不仅具有编码SRA激活蛋白(steroid receptor RNA activator, SRAP)的功能, 作为非编码转录本还具有自身调节功能, 能促进类固醇受体的激活^[23]。SRA的非编码转录本有着很高的组织特异性, 通常在心脏和骨骼肌中高度表达, 目前已发现约20个SRA的非编码转录本。5'端和3'端的点突变、伸展的不同或全段内含子甚至部分内含子突变都能改变SRA转录本编码和非编码的潜力^[7]。SRA编码的蛋白质能够与其对应的RNA连接形成复合物, 可作为MyoD的辅助因子, 从而在肌细胞分化和肌肉形成中发挥重要作用^[24]。如果将斑马鱼的SRA基因敲除, 则可导致其心肌细胞收缩力出现下降, 而对心室的收缩影响则更加显著^[25]。这提示, SRA基因可能与扩张性心肌病的发生、发展密切相关。但其具体的分子机制尚不明确, 仍有待于进一步的深入研究。

2.1.3 LncRNA与心肌梗死 Ishii等^[26]开展了一项关于心肌梗死(myocardial infarction, MI)与基因关系的大样本病例-对照研究, 对参与研究的3 435例MI病人及3 774例对照的结果分析显示, 有一个lncRNA和MI密切相关, 故将其命名为心肌梗死相关转录本(myocardial infarction-associated transcript, MIAT)。MIAT又称Gomafu或RNCR2, 是一种长约9 Kb、与心肌梗死密切相关的lncRNA, 在神经细胞中高表达^[27], 还与视网膜细胞的增殖、分化有关^[28]。MIAT共包含5个外显子, 体外实验结果显示, 这5个外显子并没有编码任何转录产物, 说明MIAT有可能只是一个功能性的RNA^[29]。全基因组水平的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)研究发现, MIAT基因中的6个SNP与心肌梗死显著相关, 其中第5外显子上的1个SNP(rs2301523)与心肌梗死的易感性相关, 功能实验则发现, 另1个SNP(A11741G)的转换突变会导致MIAT的转录水平增加1.3倍^[26]。因此, MIAT多态性很可能通过改变转录水平导致心肌梗死的发生。

2.1.4 LncRNA与动脉粥样硬化 LncRNA-ANRIL是由肿瘤抑制基因*INK4b-ARF-INK4a*基因簇转录而形成的反义链, 又称为CDKN2B的反义RNA(CDKN2B antisense RNA, CDKN2BAS)或P15

的反义RNA(P15 antisense RNA, P15AS)^[30]。ANRIL转录本位于染色体9p21.3区域内, 长约3.8 Kb, 共含有20个外显子^[31]。在不同组织中, ANRIL转录本的多个剪切体表达的产物量有差异, ANRIL转录本存在于内皮细胞、平滑肌细胞和免疫细胞等多种类型的细胞中, 在外周血单核细胞和动脉粥样硬化斑块中水平尤其高^[32-33]。全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)发现, 一些位于ANRIL基因的SNP与动脉粥样硬化的易感性密切相关^[34-35], 也是冠状动脉相关疾病中遗传易感性最强的位点^[36]。ANRIL能够招募PRC1和PRC2来调节*INK4b-ARF-INK4a*基因簇的表达, 从而影响人群心血管疾病的易感性^[37]。已有动物实验证实, ANRIL通过其顺式作用来调控细胞周期依赖性激酶抑制基因2A/B(*CDKN2A/B*)的表达, 从而在细胞增殖和衰老过程中发挥重要作用^[38]。Framingham心脏研究(Framingham heart study)对281名(94名心肌梗死患者, 94名冠心病患者和93名对照)研究对象分析结果发现, *CDKN2BAS1*基因和*CDKN2B*基因与心血管疾病密切相关^[39]。在另一项关于95名心血管疾病患者和110名正常对照的研究中也同样证实*CDKN2BAS1*与心血管疾病关系密切^[40]。而临床上通过对动脉粥样硬化斑块组织和血液单核细胞等生物样本的分析发现, ANRIL与动脉粥样硬化有着密切联系, 而其表达水平的升高与病情的严重程度有着直接联系^[33]。遗传学研究发现, 一个位于染色体9p21区域增强子上的SNP(rs10757278), 该SNP与动脉粥样硬化密切相关, 其作用机理是干扰STAT1转录因子的结合而使ANRIL的表达发生改变^[41]。STAT1是干扰素- γ 信号通路的重要分子, 它已被证实在内皮组织中与动脉粥样硬化有关^[32]。

2.1.5 LncRNA与心力衰竭 肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)是肌球蛋白的基本组成单位, 在保证肌细胞正常工作中发挥着重要的作用, 是心脏调节密切相关的基因, 其中 α -MHC和 β -MHC与心脏的收缩和能量流动密切相关。 α -MHC和 β -MHC的构成比例是心脏收缩力强弱和能量流动大小的决定性因素^[28]。如果心脏中 α -MHC增多, 则心肌细胞收缩加快; 反之, 如果 β -MHC增多, 则心肌细胞收缩减慢。机体在健康的生理情况下, α -MHC和 β -MHC的表达会随着机体的生长而自行调节。但是当机体处于糖尿病、甲状腺功能异常、血流动力学超

负荷以和热量损失等病理情况下, α -MHC和 β -MHC比例颠倒, β -MHC的表达增加, α -MHC表达受抑制而减少^[29]。LncRNA是通过调节心肌重建以及心脏肥大来影响心力衰竭的。研究显示, α -MHC和 β -MHC之间的比例失衡就是由一长度约4.5 Kb的反义lncRNA介导的^[42]。近来有研究发现, lncRNA心脏肥大相关因子(cardiac hypertrophy associated factors, CHAF)通过内源性吸附miR-489, 致使miR-489的表达水平下降, 导致miR-489的靶基因髓样分化初级反应基因88(myeloid differentiation primary response gene 88, Myd88)表达量上升, 从而引起心肌肥厚^[43]。LncRNA-MIAT表达水平的改变与心肌梗死密切相关, 与之相似, lncRNA的调节异常也是导致心力衰竭的重要原因之一, 所以, lncRNA-MIAT可能在心力衰竭中也扮演重要的角色^[26]。LncRNA在心衰小鼠的心肌细胞、血液中有特征性的表达谱, 这提示, lncRNA有可能成为心衰的标志物^[44]。在心梗早期和后期外周血中的lncRNA-LIPCAR的表达呈现出先降低后升高的趋势, 也可以成为预测心衰病人远期死亡率的一种新型标志物^[45]。

2.2 LncRNA与心血管疾病的治疗

LncRNA目前被认为是一种治疗心血管疾病的新手段, 因为它可以促进病态的心肌细胞重新进入细胞周期和提高心功能^[46]。rAAV9载体被证实与心肌层细胞有高度亲和力, 这就为lncRNA治疗部分心脏病提供了高效有力的工具^[47]。基于RNA能够合成蛋白质进而调控生物学功能的事实, 或许能够通过针对RNA采取措施从而获得治疗心血管疾病的新方法。例如, 在生物体内实验中, 可以对lncRNA施加影响, 从而改变lncRNA触发心肌梗死相关基因的表达。抗miRNA和反义寡核苷酸在临床上已经被用来抑制一些特异miRNA的表达而治疗心血管疾病^[48]。与之类似, 针对lncRNA也可以采取同样策略并克服分子的低特异性和低效的药物动力学, 为治疗心肌梗死开辟新途径。

3 展望

越来越多的研究证实, lncRNA与心血管疾病的发生、发展密切相关。但相对于mRNA和microRNA, lncRNA序列保守性和表达水平较低, 结构和功能也趋向多样化, 因此, 对于lncRNA的研究仍存在着很大困难。随着新技术和新方法在

lncRNA研究领域的应用, 将会有更多的与心血管疾病发病相关的lncRNA被发现。更重要的是, 在未来研究中应当将lncRNA的功能特征与心脏和外周血管的重塑、心功能的改变和心肌细胞的再生密切联系起来, 这样才能真正明确lncRNA在心血管疾病中的作用机制, 并为lncRNA用于临床治疗提供可能。

参考文献 (References)

- 1 WHO. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva: World Health Organization 2011.
- 2 Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, *et al*. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380(9859): 2095-128.
- 3 WHO. Cardiovascular diseases mortality: Age-standardized death rate per 100 000 population, 2010-2012. Geneva: World Health Organization 2012.
- 4 Kilic U, Gok O, Bacaksiz A, Izmirli M, Elibol-Can B, Uysal O. SIRT1 gene polymorphisms affect the protein expression in cardiovascular diseases. *PLoS One* 2014; 9(2): e90428.
- 5 Iaconetti C, Gareri C, Polimeni A, Indolfi C. Non-coding RNAs: the "dark matter" of cardiovascular pathophysiology. *Int J Mol Sci* 2013; 14(10): 19987-20018.
- 6 Kapranov P, Cheng J, Dike S, Nix DA, Duttagupta R, Willingham AT, *et al*. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science* 2007; 316(5830): 1484-8.
- 7 Dillmann W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. *Heart Fail Rev* 2010; 15(2): 125-32.
- 8 Hung T, Chang HY. Long noncoding RNA in genome regulation: Prospects and mechanisms. *RNA Biol* 2010; 7(5): 582-5.
- 9 Leung A, Trac C, Jin W, Lanting L, Akbany A, Saetrom P, *et al*. Novel long noncoding RNAs are regulated by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2013; 113(3): 266-78.
- 10 Berghoff EG, Clark MF, Chen S, Cajigas I, Leib DE, Kohtz JD. Evtf (Dlx6as) lncRNA regulates ultraconserved enhancer methylation and the differential transcriptional control of adjacent genes. *Development* 2013; 140(21): 4407-16.
- 11 Schonrock N, Harvey RP, Mattick JS. Long noncoding RNAs in cardiac development and pathophysiology. *Circ Res* 2012; 111(10): 1349-62.
- 12 Wapinski O, Chang HY. Long noncoding RNAs and human disease. *Trends Cell Biol* 2011; 21(6): 354-61.
- 13 Morris KV, Mattick JS. The rise of regulatory RNA. *Nat Rev Genet* 2014; 15(6): 423-37.
- 14 Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, Wu Q, Callis TE, Hammond SM, *et al*. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet* 2006; 38(2): 228-33.
- 15 Guttman M, Donaghey J, Carey BW, Garber M, Grenier JK, Munson G, *et al*. LincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation. *Nature* 2011; 477(7364): 295-300.
- 16 Klattenhoff CA, Scheuermann JC, Surface LE, Bradley RK,

- Fields PA, Steinhauser ML, *et al.* Braveheart, a long noncoding RNA required for cardiovascular lineage commitment. *Cell* 2013; 152(3): 570-83.
- 17 Mohammad F, Mondal T, Guseva N, Pandey GK, Kanduri C. Kcnq1ot1 noncoding RNA mediates transcriptional gene silencing by interacting with Dnmt1. *Development* 2010; 137(15): 2493-9.
- 18 Liu Y, Schwartz RJ. Transient Mesp1 expression: A driver of cardiac cell fate determination. *Transcription* 2013; 4(3): 92-6.
- 19 David R, Schwarz F, Rimbach C, Nathan P, Jung J, Brenner C, *et al.* Selection of a common multipotent cardiovascular stem cell using the 3.4-kb Mesp1 promoter fragment. *Basic Res Cardiol* 2013; 108(1): 312.
- 20 Bondue A, Blanpain C. Mesp1: A key regulator of cardiovascular lineage commitment. *Circ Res* 2010; 107(12): 1414-27.
- 21 Grote P, Wittler L, Hendrix D, Koch F, Wahrisch S, Beisaw A, *et al.* The tissue-specific lncRNA Fendrr is an essential regulator of heart and body wall development in the mouse. *Dev Cell* 2013; 24(2): 206-14.
- 22 Loewer S, Cabili MN, Guttman M, Loh YH, Thomas K, Park IH, *et al.* Large intergenic non-coding RNA-RoR modulates reprogramming of human induced pluripotent stem cells. *Nat Genet* 2010; 42(12): 1113-7.
- 23 Colley SM, Leedman PJ. Steroid Receptor RNA Activator—A nuclear receptor coregulator with multiple partners: Insights and challenges. *Biochimie* 2011; 93(11): 1966-72.
- 24 Caretti G, Schiltz RL, Dilworth FJ, Di Padova M, Zhao P, Ogryzko V, *et al.* The RNA helicases p68/p72 and the noncoding RNA SRA are coregulators of MyoD and skeletal muscle differentiation. *Dev Cell* 2006; 11(4): 547-60.
- 25 Friedrichs F, Zugck C, Rauch GJ, Ivandic B, Weichenhan D, Muller-Bardorff M, *et al.* HBEGF, SRA1, and IK: Three cosegregating genes as determinants of cardiomyopathy. *Genome Res* 2009; 19(3): 395-403.
- 26 Ishii N, Ozaki K, Sato H, Mizuno H, Saito S, Takahashi A, *et al.* Identification of a novel non-coding RNA, MIAT, that confers risk of myocardial infarction. *J Hum Genet* 2006; 51(12): 1087-99.
- 27 Blackshaw S, Harpavat S, Trimarchi J, Cai L, Huang H, Kuo WP, *et al.* Genomic analysis of mouse retinal development. *PLoS Biol* 2004; 2(9): E247.
- 28 Rapticavoli NA, Poth EM, Blackshaw S. The long noncoding RNA RNCR2 directs mouse retinal cell specification. *BMC Dev Biol* 2010; 10: 49.
- 29 Giger J, Qin AX, Bodell PW, Baldwin KM, Haddad F. Activity of the beta-myosin heavy chain antisense promoter responds to diabetes and hypothyroidism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292(6): H3065-71.
- 30 Yu W, Gius D, Onyango P, Muldoon-Jacobs K, Karp J, Feinberg AP, *et al.* Epigenetic silencing of tumour suppressor gene p15 by its antisense RNA. *Nature* 2008; 451(7175): 202-6.
- 31 Pasmant E, Sabbagh A, Vidaud M, Bieche I. ANRIL, a long, noncoding RNA, is an unexpected major hotspot in GWAS. *Faseb J* 2011; 25(2): 444-8.
- 32 Congrains A, Kamide K, Katsuya T, Yasuda O, Oguro R, Yamamoto K, *et al.* CVD-associated non-coding RNA, ANRIL, modulates expression of atherogenic pathways in VSMC. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 419(4): 612-6.
- 33 Holdt LM, Beutner F, Scholz M, Gielen S, Gabel G, Bergert H, *et al.* ANRIL expression is associated with atherosclerosis risk at chromosome 9p21. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30(3): 620-7.
- 34 Cunnington MS, Santibanez Koref M, Mayosi BM, Burn J, Keavney B. Chromosome 9p21 SNPs associated with multiple disease phenotypes correlate with ANRIL expression. *PLoS Genet* 2010; 6(4): e1000899.
- 35 Broadbent HM, Peden JF, Lorkowski S, Goel A, Ongen H, Green F, *et al.* Susceptibility to coronary artery disease and diabetes is encoded by distinct, tightly linked SNPs in the ANRIL locus on chromosome 9p. *Hum Mol Genet* 2008; 17(6): 806-14.
- 36 Companioni O, Rodriguez Esparragon F, Fernandez-Aceituno AM, Rodriguez Perez JC. Genetic variants, cardiovascular risk and genome-wide association studies. *Rev Esp Cardiol* 2011; 64(6): 509-14.
- 37 Yap KL, Li S, Munoz-Cabello AM, Raguz S, Zeng L, Mujtaba S, *et al.* Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol Cell* 2010; 38(5): 662-74.
- 38 Visel A, Zhu Y, May D, Afzal V, Gong E, Attanasio C, *et al.* Targeted deletion of the 9p21 non-coding coronary artery disease risk interval in mice. *Nature* 2010; 464(7287): 409-12.
- 39 Johnson AD, Hwang SJ, Voorman A, Morrison A, Peloso GM, Hsu YH, *et al.* Resequencing and clinical associations of the 9p21.3 region: A comprehensive investigation in the Framingham heart study. *Circulation* 2013; 127(7): 799-810.
- 40 Zhuang J, Peng W, Li H, Wang W, Wei Y, Li W, *et al.* Methylation of p15INK4b and expression of ANRIL on chromosome 9p21 are associated with coronary artery disease. *PLoS One* 2012; 7(10): e47193.
- 41 Folkersen L, Kyriakou T, Goel A, Peden J, Malarstig A, Paulsson-Berne G, *et al.* Relationship between CAD risk genotype in the chromosome 9p21 locus and gene expression. Identification of eight new ANRIL splice variants. *PLoS One* 2009; 4(11): e7677.
- 42 Haddad F, Qin AX, Bodell PW, Jiang W, Giger JM, Baldwin KM. Intergenic transcription and developmental regulation of cardiac myosin heavy chain genes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294(1): H29-40.
- 43 Wang K, Liu F, Zhou LY, Long B, Yuan SM, Wang Y, *et al.* The long noncoding RNA CHRF regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-489. *Circ Res* 2014; 114(9): 1377-88.
- 44 杨宝峰. 冉冉升起的新星: lncRNA 开启心脏发育和疾病的研究防治新时代. *科技导报*(Yang Baofeng. Rising star: LncRNA open new era for heart development and disease prevention research. *Science & Technology Review*) 2014; 32(14): 1.
- 45 Kumarswamy R, Bauters C, Volkman I, Maury F, Fetsich J, Holzmann A, *et al.* Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure. *Circ Res* 2014; 114(10): 1569-75.
- 46 Poller W, Tank J, Skurk C, Gast M. Cardiovascular RNA interference therapy: the broadening tool and target spectrum. *Circ Res* 2013; 113(5): 588-602.
- 47 Suckau L, Fechner H, Chemaly E, Krohn S, Hadri L, Kocksammer J, *et al.* Long-term cardiac-targeted RNA interference for the treatment of heart failure restores cardiac function and reduces pathological hypertrophy. *Circulation* 2009; 119(9): 1241-52.
- 48 VanRooyj E, Marshall WS, Olson EN. Toward microRNA-based therapeutics for heart disease: the sense in antisense. *Circ Res* 2008; 103(9): 919-28.