非编码RNA研究进展

陈玲玲^{1*}, 冯珊珊², 范祖森^{3*}, 龚畅^{4*}, 刘本宇³, 刘子豪⁴, 李传伟^{5,6}, 宋尔卫^{4*},
孙树汉^{7*}, 吴庚泽^{5,6}, 吴煌^{1,8*}, 吴缅^{9*}, 许光¹, 袁继行⁷, 曾春雨^{5,6*}, 朱友明¹⁰

1. 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031;

2. 暨南大学生命科学技术学院发育与再生生物学系, 再生医学教育部重点实验室, 广州 510632;

3. 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101;

4. 中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤中心, 广州 510120;

5. 陆军军医大学大坪医院心内科, 重庆 401220;

6. 重庆市心血管病研究所, 重庆 401220;

7. 海军军医大学基础医学院医学遗传学教研室, 上海 200433;

8. 陆军军医大学大坪医院输血科, 重庆 400042;

9. 中国科学技术大学生命科学与医学部, 中国科学技术大学第一附属医院肝胆外科实验室, 合肥 230026;

10. 安徽医科大学口腔医学院, 安徽口腔疾病研究重点实验室, 合肥 230032

* 联系人, E-mail: linglingchen@sibcb.ac.cn; fanz@moon.ibp.ac.cn; changgong282@163.com; songew@mail.sysu.edu.cn; shsun@vip.sina.com;
wuhuang2019@126.com; wumian@ustc.edu.cn; chunyu2010@163.com

作者贡献相同, 按姓氏拼音顺序排名

收稿日期: 2019-08-26; 接受日期: 2019-09-23; 网络版发表日期: 2019-12-10

国家重大研发计划(批准号: 2017YFC1309103, 2017YFC1309104)、国家自然科学基金重点项目(批准号: 31830108, 81830085)、国家杰出青年
科学基金(批准号: 31725009)、国家自然科学基金(批准号: 81672594, 81772836, 81872139, 81572792, 81773005)、上海市科学技术委员会(批
准号: 18QA1405100)和广州再生医学与健康广东省实验室临床创新研究项目(批准号: 2018GZR0201004)资助

摘要 非编码RNA是指不具备蛋白质编码能力的RNA, 包括转运RNA、核糖体RNA、小核仁RNA(small nucleolar RNA, snoRNA)以及长非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)等. 非编码RNA广泛参与生命活动中重要的生物功能, 如生物个体的发育与分化、生殖、细胞凋亡和细胞重编程等, 并且与人类疾病密切相关. 近年来, 随着我国经济的发展和人口老龄化, 心血管疾病、肿瘤、代谢性疾病等疾病已成为威胁中国居民健康的重大慢性非传染性疾病, 一些罕见病, 例如小胖威利综合征(Prader-Willi syndrome, PWS)也随着人口基数的不断增大逐渐影响我国居民的身体健康. 随着对这些慢性疾病及罕见疾病发生发展的相关机制研究, 我国科学家发现非编码RNA与这些疾病密切相关. 非编码RNA参与调控一系列的心血管疾病、肿瘤、代谢性疾病、感染免疫性疾病和PWS等疾病过程. 本文对我国学者在非编码RNA领域的贡献进行综述, 详细阐述了非编码RNA的加工形成和功能研究等主要进展, 并对探究这些非编码RNA与PWS、心血管疾病、肿瘤、代谢性疾病和感染免疫性疾病等发生发展中的重要调控作用, 以及我国科学家对该领域的贡献进行了详细的综述和总结.

关键词 非编码RNA, 心血管疾病, 感染免疫性疾病, 代谢性疾病, 肿瘤, 神经系统疾病, 内分泌系统疾病

引用格式: 陈玲玲, 冯珊珊, 范祖森, 等. 非编码RNA研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 1573–1605

Chen L L, Feng S S, Fan Z S, et al. Progress in non-coding RNA research (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 1573–1605, doi: 10.1360/SSV-2019-0179

20世纪70年代末, 中国基本完成了疾病谱的转变, 疾病死亡的主要原因由急性传染病转变为慢性病, 慢性病的致死率居于全国总病死率之首。其中, 心血管疾病、恶性肿瘤和代谢性疾病明显增加并成为慢性病致死的主要原因。改革开放40年来, 针对中国医疗卫生领域慢性病现状, 科学家们从生命科学领域对慢性病的发病机制、预防和治疗进行了探索并做出了突出的贡献。生命科学领域在过去20年间对非编码RNA(non-coding RNA, ncRNAs)研究的突破, 极大地改变和补充了中心法则, 其中我国科研界在ncRNA的基础及临床转化研究中开展了卓有成效的工作。值此建国70周年之际, 特邀我国在非编码RNA与人类疾病领域做出卓越贡献和具有广泛影响力的部分科学家就相关领域的原创性的重要进展和突出成就进行综述, 展望未来发展趋势, 以期记载科学历史、传承科学精神、引领科学风尚。

1 非编码RNA与小胖威利综合征

长期以来, 基因组上不编码蛋白质的非编码区域被认为是“垃圾区域”。随着RNA测序技术以及计算生物学的发展, 研究发现, 这些非编码区域能够转录产生大量的非编码RNA, 这些RNAs不具备蛋白质编码能力^[1]。根据功能和大小大致将非编码RNA分为3类: “管家”非编码RNA(housekeeping noncoding RNA)、小RNA(small RNA, sRNA)和长非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)。“管家”非编码RNA是细胞生命活动中重要组成部分, 主要包括rRNA(ribosomal RNA), tRNA(transfer RNA), snRNA(small nuclear RNA)和snoRNA(small nucleolar RNA)。小RNA, 一般是指长度在200个核苷酸以下的非编码RNA, 根据其物种来源, 可分为两类, 一类是细菌小RNA, 一类是真核生物小RNA。其中, 真核生物小RNA包括miRNA(microRNA), siRNA(small interfering RNA)和piRNA(Piwi-interacting RNA)等。长非编码RNA在基因组中广泛转录, 根据其转录位置和分子特征, 主要分为基因间长非编码RNA(long intervening/intergenic ncRNA, lincRNA)、天然反义转录本(natural antisense transcript, NAT)、启动子上游转录本(promoter upstream transcript, PROMPT)、增强子RNA(enhancer RNA, eRNA)、环状RNA(circular RNA, circRNA)和snoRNA

加工来源的长非编码RNA等, 详见综述^[2,3]。

非编码RNA与人类的疾病有密切联系, 对非编码RNA在正常生理水平和病理状态下的机制研究, 能够为疾病的发生发展和治疗提供新的思路和理论基础^[4]。小胖威利综合征(Prader-Willi syndrome, PWS)是一种多系统紊乱的复杂疾病, 临床症状复杂, 患儿在生长发育各个阶段表现不同, 最明显的表型是肥胖、智力不全和性腺发育不良。PWS发生的主要原因是父源第15号染色体q11~q13上的基因不表达。PWS遗传致病机制主要包括: 父源缺失(paternal deletion)、母源单亲二体(uniparental disomy, UPD)、印记缺失(imprinting defects)和染色体易位(chromosome translocation)。其中父源缺失为主要病因, 占比65%~75%^[5~7]。PWS的核心区域转录产生小核仁RNA snoRD116s、两端以snoRNA结尾的sno-lncRNAs(snoRNA-ended lncRNAs)^[8]以及5'端为snoRNA而3'端则是poly(A)尾巴的SPAs(5' snoRNA capped and 3' polyadenylated lncRNAs)^[9]。这3类非编码RNA的表达缺失与PWS疾病的发生发展密切相关, 本章主要围绕这几类非编码RNA与PWS疾病介绍相关进展。

1.1 Box C/D类型snoRNA snoRD116s的加工机制及功能研究

SnoRNA是一类长度为70~200个核苷酸的非编码RNA, 通常定位在细胞核仁或Cajal body中, 能够参与小核RNA、rRNA的修饰和rRNA的加工^[10~12]。哺乳动物中大部分snoRNA位于内含子区域^[13], 在mRNA(messenger RNA)加工成熟过程中, 内含子被剪接体解切下来, 随后在脱分支酶和核酸外切酶作用下而形成^[14,15]。SnoRNA与特定的蛋白复合体结合, 形成小核仁核糖核蛋白复合物(small-nucleolar ribonucleoprotein complexes, snoRNPs)来发挥相应的功能^[10]。SnoRNA根据保守基序及结构被分为两类, 即box C/D snoRNA和box H/ACA snoRNA。box C/D snoRNA含有两个保守基序, 一个为box C序列RUGAUGA(R为嘌呤), 另一个为box D序列CUGA。Box C位于5'末端, box D位于3'末端, 人box C/D snoRNA位于内含子, 距离5'剪接位点下游约30个核苷酸、3'剪接位点上游约70个核苷酸处(图1A)^[16]。Box H/ACA snoRNA具有保守的“发夹-铰链-发夹-尾(hairpin-hinge-hairpin-tail)”结构^[17]。Box H (ANANNA, N代表任一核苷酸)位于单链形式的铰链

区, ACA则一般位于3'末端上游3个核苷酸处^[17]. 在细胞中snoRNA与蛋白质结合形成snoRNP复合物来发挥功能. 此外, 核心蛋白的结合对于保护成熟snoRNA的末端免于核酸外切降解至关重要^[18-21]. Box C/D snoRNP包含4种蛋白质, 如纤维蛋白(fibrillarin)/Nop1p, Nop56, Nop58/Nop5p和p15.5KD/Snu13p, 其中纤维蛋白是甲基转移酶, 能够催化rRNA的2'-O-甲基化^[22,23]. Box H/ACA snoRNP的结合蛋白有Cbf5p(dyskerin), Gar1p, Nhp2p和Nop10p, 它们对于假尿嘧啶化反应都是必需的^[24].

随着snoRNA大量被鉴定, 研究人员发现, 一些RNA虽然具有box C/D或者box H/ACA的典型结构, 但却找不到能与rRNA或者snRNA相匹配的互补序列, 这类分子被称为孤儿snoRNA(orphan snoRNA)^[25]. SnoRD116具有典型的box C/D结构, snoRD116转录自与PWS疾病密切相关的基因印记区域(15号染色体q11~q13区域), 该区域含有29个串联重复的snoRD116^[8]. SnoRD116是一类孤儿snoRNA, 目前找不到与rRNA相互匹配的序列, 其作用靶点未知. 生物信息学筛选发现, 蛋白质编码基因存在23个snoRD116可能的靶标, 这些基因大部分具有可变剪接, 推测snoRD116有可能在调节可变剪接中发挥作用^[26].

1.2 两端以snoRNA结尾的长非编码sno-lncRNA的加工机制

通过无poly(A)尾转录组分离纯化技术、高通量RNA测序技术及计算生物学分析^[20], 近年来研究揭示一类来源于15号染色体q11~q13区域、具有结构特殊的新型lncRNAs. 这类lncRNA两端以snoRNA结尾, 并被命名为sno-lncRNA(图1A)^[8,27]. 已知在pre-mRNA剪接过程中, 内含子被剪切下来之后, 经脱支和核酸外切酶的作用快速降解. 高等动物snoRNA大部分位于内含子中, 一般一个内含子中只含有一个snoRNA. 这类内含子来源的snoRNA在剪接过程中和核心蛋白Fibrillarin、15.5K等结合, 形成稳定的snoRNP复合物, 阻碍了核酸外切酶的降解作用从而得以稳定存在^[27]. 研究表明, 当一个内含子中含有两个snoRNA时, 两端的snoRNA同样可以形成snoRNP复合物, 阻碍核酸外切酶的降解, 使两个snoRNP中间序列被保护下来, 从而形成了一种5'端没有m7G帽子结构, 3'端没有poly(A)尾巴的新型sno-lncRNA分子(图1B)^[8]. 载体突变实验

发现, 5'端的snoRNA的box C和3'端的snoRNA的box D对于sno-lncRNA加工和成熟至关重要^[8]. 据报道, 剪接体复合体的组装可能会干扰snoRNP的组装, snoRNA在内含子中的位置对单个snoRNA加工形成十分重要^[16]. 但这一结论并不适用于sno-lncRNA的加工形成, 研究发现, sno-lncRNA两端snoRNA距离剪接位点的距离比单个snoRNA远得多(图1A). 尽管snoRNP组装是sno-lncRNA成熟所必需的, sno-lncRNA两端的snoRNP组装的动力学确切机制可能与单个snoRNP不同. 不论具体组装机制如何, 研究发现, sno-lncRNA通过其两端snoRNP来实现比具有匹配表达水平的mRNA更长的半衰期^[8].

1.3 5'端为snoRNA、3'端为poly(A)尾巴的长非编码SPA的加工机制

与PWS疾病密切相关的基因印记区域(15号染色体q11~q13区域)能够产生多种snoRNA, 为了进一步解析PWS的病因, 并发掘更多与snoRNA相关的lncRNA, 研究人员进行了box C/D snoRNA相应的结合蛋白Fibrillarin的RNA免疫共沉淀(RNA-immunoprecipitation, RIP)实验(图1C), 并将富集的RNA进行高通量测序和计算生物学分析, 从而发现了另外一类新型的长链非编码RNA. 这类长非编码RNA的5'端是box C/D snoRNA而非经典的m7G帽子, 3'端则是poly(A)尾巴, 被命名为SPA(图1D). 在人源胚胎干细胞中, SPA1和SPA2是两条表达丰富的长链非编码RNA, 来自15号染色体q11~q13区域, 位于mRNA SNURF-SNRPN 3' UTR(untranslated region)区域^[9]. 新生RNA测序分析(nascent RNA-seq)^[28]发现, SPA1, SPA2和mRNA来源于同一个多顺反子转录本. 质粒重构及突变替换实验证明, SPA加工形成5'端完整的snoRNA及其上游较弱的转录终止信号^[9]. 转录终止鱼雷模型认为, 3'端的成熟与转录终止偶联, poly(A)信号的生成引发内切酶切割前体RNA, 上游产物在加尾因子的作用下加上poly(A)尾巴, 下游产物被迅速降解, 导致转录终止^[29]. 分别敲低切割复合体因子CPSF30, CPSF70以及核酸外切酶XRN2后导致SPA生成增加^[9].

PWS疾病密切相关的基因印记区域产生的长非编码RNAs SPAs和sno-lncRNAs的加工产生模型总结如(图1E)所示. Pol II在SNURF-SNRPN启动子处起始转录, pre-RNA 5'端加上m7G帽子. Pol II以较快的速

图 1 PWS核心区域非编码RNA的特征及加工形成的分子机制(根据文献[8,9,30]修改). A: SnoRNA与sno-lncRNA加工形成的关键序列及位置示意图. snoRNA和sno-lncRNA两端距离5', 3'剪接位点距离是不同的; sno-lncRNA两端加工形成的关键序列用红色标记; B: sno-lncRNA加工形成机制; C: Fibrillarin RNA免疫共沉淀(Fib-RIP)寻找新型snoRNA相关lncRNAs流程示意图; D: Fib-RIP, RNA poly(A)组分分离后RNA测序结果示意图. 上: 第15号染色体q11~q13区域基因模式图; 红线代表SPA1, 蓝线代表SPA2, 黑线代表sno-lncRNAs; 左下: Fib-RIP测序峰图与poly(A)+测序峰图揭示SPA1具有5'端snoRNA帽子、3'端poly(A)尾巴结构; 右下: Fib-RIP测序峰图与poly(A)-测序峰图表明, sno-lncRNA具有两端含snoRNA帽子结构; E: SPA加工形成机制

Figure 1 Characterization and biogenesis of ncRNAs processed from the minimal PWS deletion region. Modified from Ref. [8,9,30]. A: Key sequence and position required for box C/D snoRNAs/sno-lncRNAs processing. The host intron and key elements required for snoRNAs/sno-lncRNAs processing. The 5' and 3' regions splicing sites (SS) are distinct between snoRNAs and sno-lncRNAs processing; the key elements for sno-lncRNA processing are marked in red; B: the diagram of sno-lncRNA processing; C: RNA-immunoprecipitation of Fibrillarin (RIP) followed by RNA-sequencing for identifying snoRNA-ended lncRNAs; D: Fib-RIP RNA-seq, poly(A)+ and poly(A)- RNA-seq revealed characterizations of SPA and sno-lncRNA. Top: Diagram of the chr15q11-q13 region. SPA1, SPA2 are shown by red or blue lines, and five sno-lncRNAs are shown by black lines. Bottom left: Fib RIP RNA-seq (red) and poly(A)+ RNA-seq (black) revealed SPA1 with a 5' snoRNA cap and a 3' poly(A) tail. Bottom right: Fib-RIP RNA-seq and poly(A)- RNA-seq revealed sno-lncRNA with snoRNA ends; E: a model of SPA processing

度延伸, 通过SNRPN转录终止信号后, 3'端加工因子CPSF30识别pre-RNA上的转录终止信号, CPSF73将pre-RNA切割; 在加尾因子的作用下, 上游产物的3'端加上poly(A)尾巴, 形成成熟的snrpnRNA. 5'端核酸外切酶XRN2从5'端降解pre-RNA, Pol II以较快的速度延伸, 在XRN2“追上”之前已经转录了snoRNA并与相应的结合蛋白形成snoRNP复合体, 进而阻止XRN2的降解. Pol II得以继续延伸, 直至遇到下一个转录终止信号, 在3'端加工因子与多腺苷酸化因子的作用下在3'端形成poly(A)尾巴, 形成了5'端具有snoRNA帽子, 3'端具有poly(A)尾巴的SPA1. 位于SPA1下游5.6 kb处的SPA2, 经过与SPA1相同的加工机制, 外显子剪接形成成熟的SPA2, 被剪接下来的内含子中若没有snoRNA, 该内含子被核酸外切酶降解; 若内含子中有一个snoRNA, 在核酸外切酶的作用下, 加工形成snoRNA (snoRD116s, 29个); 若内含子中含有两个snoRNAs, 则能够形成sno-lncRNA (sno-lncRNA1~5, 5个)^[9].

1.4 转录自PWS最小缺失区域非编码RNAs的功能研究进展

PWS是一种多系统紊乱的复杂疾病, 主要表型为肥胖、智力不全、性腺发育不良^[5]. 15号染色体q11~q13区域的父源表达缺失是PWS疾病的病因^[6,31]. 该区域能转录产生编码基因SNURF-SNRPN, 及其下游的UTR区域能够产生大量的snoRNA, 包括SNORD64, SNORD107, SNORD108, SNORD109A以及29个snoRD116^[32~34]. 重要的是, PWS病人的最小缺失区域位于SNURF-SNRPN的3' UTR, 表明该区域的缺失会导致PWS疾病的发生^[5,7,31,34]. 本实验室研究发现, 在PWS病人的最小缺失区域, 能够产生2个SPAs (SPA1, SPA2) 和5个sno-lncRNAs (sno-lncRNA1~5). SPA1长度为34000个核苷酸, SPA2长度为16000个核苷酸, sno-lncRNA1~5长度范围为1100~2900个核苷酸(图2A)^[8,9].

这些sno-lncRNAs以及SPAs在人胚胎干细胞及诱导多功能干细胞中高表达. 它们都定位在细胞核中, 形成一个1~2 μm^3 的聚集小体^[8,9]. 研究发现, 聚集小体中含有RNA结合蛋白TDP43, RBFOX2, hnRNPM(图2B). 利用CRISPR(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)基因编辑技术将人胚胎干细胞中PWS最小缺失区域的lncRNAs敲除, 通过构建PWS疾病干细胞模型后进行转录组测序分析发现, 基因整体表达

没有明显变化, 但是影响基因的可变剪接^[9]. PWS最小缺失区域的lncRNAs敲除后导致TDP43, RBFOX2, hnRNPM等RNA结合蛋白在转录组上错误结合, 导致基因的可变剪接发生变化^[9]. 值得注意的是, 这些可变剪接发生改变的基因, 例如RIMS2和DLG1与突触体和神经营养因子信号通路密切相关. 上述基因可变剪接的改变在PWS病人来源的诱导多功能干细胞中得到进一步验证^[9].

总而言之, 这些发现表明sno-lncRNAs和SPAs与PWS发病机制之间存在潜在的相关性. 但是这些lncRNAs的缺失是否会影响下丘脑神经系统功能的发挥, 其发挥的分子机制以及每个lncRNA的功能仍然需要进一步研究. 未来可以在胚胎干细胞及神经细胞中利用新发展的技术, 如定量质谱分析RNA-蛋白质的相互作用、单分子RNA原位荧光杂交、超高分辨率荧光显微镜等技术鉴定与单个SPA和sno-lncRNA相关的其他蛋白质、DNA和RNA. 揭示SPA和sno-lncRNA所形成的细胞核亚结构小体的组成, 将有助于认识其缺失在PWS发病机制中的重要调控作用, 为今后更好地认识和治疗PWS疾病提出新见解.

1.5 PWS最小缺失区域的非编码RNA的保守性分析及功能研究进展

临床研究显示, 超过70%的PWS病人是由15染色体q11~q13父源染色体缺失所导致的. 研究人员根据PWS病人15染色体缺失长度的差异, 构建了不同缺失长度的PWS小鼠^[35]. 多基因敲除PWS小鼠, 如6.8 Mb大片敲除PWS小鼠^[36,37]、印记中心缺失PWS小鼠^[38,39]和Snurf-Snrpn-Ube3a区域缺失PWS小鼠^[40], 在出生后的一周内, 产后死亡率高达80%, 这大大限制了PWS小鼠成年期的任何表型分析. 因此, 研究人员构建了PWS核心区域缺失的小鼠(snoRD116区域缺失PWS小鼠), 这类小鼠具有PWS病人的部分表型, 如生成迟缓、饮食过多^[41~43]. 小鼠snoRD116区域基因在下丘脑弓状核高表达^[44], 研究人员将小鼠下丘脑弓状核NPY神经元细胞中snoRD116区域敲除, 这种小鼠重现了snoRD116区域缺失PWS小鼠摄食增加等表型^[45], snoRD116区域缺失的PWS小鼠下丘脑中参与胰岛素原, 促生长释放激素和前列腺素的激素原转化酶PC1的活性降低^[46]. 这提示snoRD116区域基因可能参与调控食物摄入和能量代谢信号通路. 此外, 研究发现, 来

图 2 PWS区域sno-lncRNA和SPA加工和作用的分子机制(根据文献[9]修改). A: 上: 15号染色体q11~q13区域是基因印记区域, 只有父源染色体上的基因转录. 70%的PWS病人都是父源缺失, 已报道的PWS病人最小缺失区域如图所示. 下: 多顺反子转录SNURF-SNRPN经过剪接、加工形成长非编码RNA SPA1, SPA2和sno-lncRNA1~5. B: PWS区域lncRNAs作用的分子机制模型. SPA1, SPA2和sno-lncRNA1~5在细胞核内形成聚集小体, 能与RNA结合蛋白TDP43, RBFOX2以及hnRNP M结合, 通过调节结合蛋白与底物的结合模式来调控一些与神经系统大脑发育相关基因的可变剪接(左); PWS病人中这些lncRNAs表达缺失, 导致TDP43, RBFOX2等RNA结合蛋白错误地结合神经发育相关基因(右), 导致基因可变剪接发生变化, 从而可能会影响神经系统的正常发育

Figure 2 Functions of sno-lncRNAs and SPAs. Modified from Ref. [9]. A: Top, diagram of the PWS region (paternally expressed region) and small deletions of paternal origin that cause PWS. Bottom, sno-lncRNAs and SPAs are derived from the SNURF-SNRPN polycistronic transcript. B: A proposed working model of PWS region lncRNAs in cells. PWS region lncRNAs interact with TDP43, RBFOX2, and hnRNP M. Left, SPAs and sno-lncRNAs from the PWS deletion region assemble into a striking nuclear accumulation, affect binding patterns of RNA binding proteins (RBPs) and alternative splicing in hESCs. Right, hESCs lacking PWS region lncRNAs have altered patterns of RBP binding and alternative splicing of some genes were associated with synaptosome and neurotrophin signaling pathways

自小鼠snoRD116区域的非编码基因snoRD116HG定位在转录位点附近, 在细胞核内形成“RNA云”(RNA cloud)结构^[47-49]. 研究发现, “RNA云”通过结合转录因子RBBP5^[49]和影响DNA甲基化^[50]来调控昼夜节律和

能量代谢相关基因的表达; snoRD116区域缺失导致小鼠呼吸交换速率降低, 能量代谢异常^[48,49]. 推测小鼠snoRD116区域snoRD116HG可能具有人SPA长非编码RNA类似的结构.

已知现有的小鼠PWS模型不能完全模拟人PWS的临床症状^[35]。为了探究其原因, 研究人员通过分析人、小鼠测序数据发现, 人和小鼠的PWS区域具有相似的基因结构, 人和小鼠基因组中PWS区域均只在编码基因*SNURF-SNRPN*上游存在单个启动子, 在这一区域中, 人和小鼠的上游均为蛋白编码基因*SNURF-SNRPN*, *SPA*和*SNORD116*基因簇均位于*SNURF-SNRPN*的3' UTR(图3A)^[9]。对人和小鼠PWS区域基因的序列进行比对, *SNURF-SNRPN*的外显子在人和小鼠中具有高度的序列保守性, *SNORD107*, *SNORD64*和*SNORD116*家族具有高度的序列保守性(图3B), *SNORD109*只特异地存在人体内表达(图3A)^[9]。人和小鼠中均产生lncRNA *SPA1*, 人和小鼠的*SPA1*都具有同样的基因结构并经过剪接形成成熟的转录本, 但是人和小鼠的*SPA1*除了5'端snoRD107序列保守外, 其他序列均不保守(图3B)。由于小鼠PWS区域基因组上缺乏

SNORD109, *SPA2*只特异地存在人体内, 小鼠转录组中不表达*SPA2*(图3A)。此外, PWS区域sno-lncRNAs仅在灵长类动物中表达, 在小鼠转录组中不表达^[9,27]。这是由于虽然组成sno-lncRNAs的snoRNA基因在人和小鼠中均保守存在, 但是这个区域的可变剪接具有物种特异性^[27]。在人类基因组中, 可变剪接导致一个内含子中存在两个snoRNAs, 因此可以形成sno-lncRNAs; 而在小鼠基因组中, 单内含子仅有一个snoRNA^[41,42], 因此不能形成sno-lncRNAs(图3A)。通过对小鼠海马组织和胚胎干细胞本poly(A)+ RNA-seq数据分析研究还发现, 人*SPA1*在胚胎干细胞向神经分化的过程中均有表达, 而小鼠*SPA1*在胚胎干细胞中的表达大量缺失, 但是在海马组织中则极为丰富, 说明人和小鼠*SPA1*的表达或者加工生成并不保守^[9]。总而言之, 来源于PWS最小缺失区域的lncRNAs在人和小鼠进化上并非保守, 这至少部分解释了PWS小鼠模型不能很好地模拟人

图3 PWS核心区域非编码RNA保守性分析(根据文献^[9]修改)。A: 人和小鼠的PWS核心区域具有相似的基因结构。人和小鼠中, 这一区域上游均为*SNURF-SNRPN*编码基因, *SNORD107*位于*SNURF-SNRPN*编码基因的3' UTR; 但小鼠基因组中, 仅有*Snord116*基因簇, 没有sno-lncRNAs和*SPA2*; B: 人和小鼠PWS核心区域RNA序列保守性分析。左: *SNURF-SNRPN*的外显子序列在人和鼠间保守; 中: 人和鼠的*SPA1*基因5'端的snoRNA保守, 但其他序列不保守; 右: 序列比对显示人和鼠*SNORD116*序列保守

Figure 3 Conservation of PWS region ncRNAs between humans and mice. Modified from Ref. [9]. A: Genome organization of the PWS region in humans and mice. This entire region only contains one promoter located in the upstream of the protein coding gene *SNURF-SNRPN*. SPAs and *Snord116* cluster are located in the previously thought 3' UTR of *SNURF-SNRPN*; B: sequence alignment of PWS region RNAs in humans and mice. Left: *SNURF-SNRPN* has conserved exons between the two species. Middle: *SNORD107* and *SNORD64* in *SPA1* region are conserved. Right: All snoRNAs in *SNORD116* cluster are conserved

类疾病的原因, 即这些进化不保守的人类转录组中存在的长链非编码RNAs缺失对于PWS疾病发生非常重要。

1.6 sno-lncRNA与小胖威利综合征总结

通过对哺乳动物转录组包括无poly(A)尾RNA转录组的分离纯化分析^[20]及box C/D snoRNA相应的结合蛋白Fibrillarin富集RNA分析^[9], 研究人员发现了一系列分子末端含有snoRNP特殊结构的新型lncRNA分子家族, 解析了这类新型长链非编码RNA的加工形成机制^[8,27]。这些具有snoRNA结构的lncRNA, 其产生具有物种特异性, 在人细胞中表达量非常丰富, 提示它们在人类细胞功能中可能扮演着重要角色, 例如与罕见病小胖威利综合征密切相关^[8,9]。此外, 研究还发现, 这类lncRNA也在调控细胞核仁的功能和细胞增殖过程中扮演重要角色^[21]。

虽然这些新型lncRNAs的缺失与小胖威利综合征发生的机制仍然有待深入研究, 但它们有望在PWS疾病诊断中产生重要应用价值。目前, 小胖威利综合征的诊断方法是基于DNA水平^[5]。常用的诊断方法有甲基化特异性扩增及甲基化特异性多重连接, 但这类方法存在样品用量大、操作复杂、检测范围无法全部覆盖等缺点^[50], 无法应用于新生儿罕见病小胖威利综合征筛查。PWS区域sno-lncRNAs两端有snoRNP帽子结构, snoRNP形成的稳定复合物使得sno-lncRNAs具有极高的稳定性。最近研究发现, PWS区域缺失的sno-lncRNAs稳定存在于正常人的血液样品中, 而在PWS患者血液样品中检测不到(未发表数据)。这些特征使得sno-lncRNAs作为罕见病小胖威利综合征新生儿筛查的分子标志物能够克服DNA水平诊断方法存在的不足, 在新生儿小胖威利综合征筛查的开发应用上具有广阔的前景。

PWS区域非编码RNA分子的缺失与小胖威利综合征发生发展的机制有待进一步研究。未来可以利用先进的实验手段, 发掘与PWS区域非编码RNA相互作用的蛋白、DNA和RNA, 为解析这些非编码RNA分子特性及功能机制奠定分子基础。此外, 探究PWS区域非编码RNA分子在下丘脑神经元的作用也将有助于认识其功能作用机制。目前, 各类PWS小鼠模型都无法完全模拟PWS病人的临床表型^[35]。例如, PWS核心区域缺失小鼠有摄食增加、学习能力变弱^[51]等与PWS患

者一致的表型, 但是没有出现肥胖这一突出表型^[41,48]。研究人员分析恒河猴转录组发现, PWS区域非编码RNA在恒河猴高度保守^[27], 这提示人们构建非人灵长类PWS疾病模型有望重复出PWS病人的临床表型, 该模型的建立对解析PWS区域非编码RNA的作用机制及PWS的治疗药物筛选实验将具有推动作用。

2 非编码RNA与心血管疾病

随着经济的发展和人口老龄化, 心血管疾病已成为威胁中国居民健康的重大慢性非传染性疾病。《中国心血管报告2018》提到目前我国心血管病患者人数为2.9亿, 其中冠心病1100万人, 肺源性心脏病500万人, 而高血压患者则高达2.45亿人。与此同时, 心血管疾病危险因素的人群, 如糖尿病、肥胖症、吸烟人群仍在持续增加, 心血管疾病的防治形势仍十分严峻。针对心血管疾病发病机制的研究一直是国内外的热点。近年来, 非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)在心血管疾病中的研究取得了长足的进展, 许多心血管疾病相关的ncRNA在心血管疾病发生和发展中的分子机制得以阐释。随着国家对生命科学的重视和研究投入的增加, 国内众多的科技工作者也在此方面开展了广泛的研究并取得了一定的研究成果, 但相关基础研究能够转化应用至心血管疾病的临床防治尚有很多工作需要完成。本章将近3年国内在心血管疾病领域所做的部分ncRNA相关的研究做一概括, 以期今后相关的工作提供研究参考。

2.1 非编码RNA的生物信息学进展

人类基因组中仅非常少(2%)的基因参与编码蛋白质, 而其余98%的基因不能编码蛋白质及多肽。与此形成对比的是大量ncRNA的存在, 这其中包括约2500种miRNA, 100000种以上的lncRNA以及32000种circRNA。如果逐一研究每个ncRNA的功能将会浪费大量的研究精力, 因此在众多的ncRNA中筛选出心血管疾病相关的功能ncRNA是研究首要解决的问题^[52]。传统的方法主要使用基因芯片或测序获取病变组织与正常组织差异表达的ncRNA并在模式动物中验证其功能, 这种方法对于物种特异性高的miRNA研究较适用。但lncRNA及circRNA物种间保守性差, 传统研究方法难以开展。与此同时, 近10年广泛开展的大规模全基

基因组关联分析研究(genome-wide association studies, GWAS)揭示了约161个与冠心病相关的单核苷酸多态(single nucleotide polymorphisms, SNP)位点^[53], 但约90%的SNP位点位于基因非编码区域, 既往研究证实, GWAS相关的热点SNP区域也是lncRNA的重点编码区域. 哈尔滨医科大学李霞团队^[54]开发的lincSNP 2.0数据库, 主要用于注释人类lncRNA及其转录因子结合位点中的与疾病相关的SNP位点, 便于研究者从众多的lncRNA中筛选出心血管疾病相关的lncRNA. 北京大学崔庆华团队开发的LncRNADisease(lncRNA and disease association database)数据库则收录了160多种与lncRNA相关的疾病, 并对lncRNA与疾病之间的关系做了详细注释, 同时集成了生物信息学工具用以预测新的lncRNA和疾病的关系^[55], 他们团队还开发了MIS-IM系统用于miRNA相互之间的关系及在疾病中的作用^[56]. 南京医科大学团队开发的circRNADb则详细收录了32914种circRNA的基因信息及可能的可读框, 为circRNA的功能学研究提供了信息学的保障^[57].

2.2 非编码RNA在心血管疾病危险因素中的作用

miRNA主要通过目标信使RNA的碱基互补发挥翻译抑制或mRNA降解的作用. 华中科技大学团队报道梗死后的心肌可以将富含的miR-1, miR-208, miR-499通过微泡形式运送至骨髓单核细胞, 并通过抑制CXCR4的表达参与心肌梗后血管内皮的损伤和炎症反应^[58]. lncRNA参与心血管疾病的调控机制则比较复杂, 主要分为胞核机制和胞浆机制. 南方医科大学团队发现, NEXN临近反义链上编码的lncRNA NEXN-AS可以通过与核蛋白BAZ1A相互作用调控NEXN的表达, 而NEXN则通过下游的TLR4及NF- κ B作用的炎症因子的表达而调控动脉硬化中的炎症反应, 冠心病患者NEXN及NEXN-AS表达下降是动脉硬化的发病机制之一^[59]. 陆军军医大学曾春雨团队^[60]报道, lincRNA-p21可以通过介导下游p53的表达而参与平滑肌增殖及凋亡的调控, 而lincRNA-p21的表达同时也受到p53的转录调控. 青岛大学王昆团队^[61]发现, 成人心肌细胞增殖能力的减弱与lncRNA CPR调控的MCM3基因表达相关, lncRNA CPR通过与DNA甲基化转移酶DNMT3A结合而参与的MCM3基因表达调控. 武汉大学李红良团队^[62]揭示了心脏高表达的lncRNA Chaer通过与多梳蛋白复合体PRC2结合, 影响心肌肥厚相关

基因启动子的组蛋白甲基化(H3K27), 从而调控心肌肥厚相关基因, 这种调控还受体内其他因素的影响, 如激素、压力负荷等. 哈尔滨医科大学杨宝峰教授团队^[63]发现, 心衰患者心脏中lncRNA CCRN表达的降低导致心肌传导降低并增加心律失常的风险, 过表达lncRNA CCRN则可以通过作用于CX43的结合蛋白CIP85而抑制CX43的降解从而减少心肌重构中心律失常的发生风险.

南京医科大学蒋沁团队^[64]研究发现, lncRNA-MIAT作为竞争性内源性RNA, 与VEGF和miR-150-5p形成反馈调节网络, 参与糖尿病性微血管病变的调控, 从而揭示了微血管病变的调控新机制.

浙江大学张力团队与伦敦大学玛丽皇后学院William Harvey心脏中心肖庆忠教授团队^[65]针对血管损伤后内膜异常增生的机制发现, miR-22作为血管异常重构性疾病治疗靶点, 能够通过调控MECP-2和EVI-1减轻血管损伤后的病理性内膜增生, 从而改善血管病理性重构, 减轻血管狭窄.

心力衰竭患者常常伴随肌肉萎缩, 严重影响生存质量. 上海大学肖俊杰团队^[66]发现, miR-29b在多种不同因素诱导的肌肉萎缩中一致性地上调, 同时鉴定出miR-29b主要通过抑制IGF-1-PI3K-AKT-mTOR通路诱导肌肉萎缩, 抑制miR-29b可以防治肌肉萎缩的发生.

西安交通大学团队研究证实, 大鼠肝脏内lnc-HC可以与hnRNPA2b1结合从而调控下游腺苷三磷酸结合盒式转运因子A1及CYP7A1的表达而负向调节胆固醇的水平, 同时lnc-HC的表达受体内胆固醇水平的转录调控^[67]. 曾春雨团队^[68]发现, 肝脏表达的lncRNA LASER可以通过HNF-1 α -PCSK9途径调控肝脏胆固醇代谢, 而他汀治疗在降低胆固醇的同时可以通过LXR途径上调lncRNA LASER的表达, 从而部分抵消了他汀的降脂效应.

非编码RNA之间还可以通过分子之间的相互作用而发挥调控作用, 如中国科学院动物研究所李培峰团队^[69]报道, lncRNA CHRF通过内源性的海绵机制作用于miR-489, 而miR-489的下游靶基因Myd88参与了心肌肥厚的调控. lncRNA RP5-833A20.1可以通过促进miR-382-5p的表达而间接抑制调控核因子IA的表达, 从而参与肝脏胆固醇的代谢及动脉硬化的发生^[70].

线粒体基因组编码的转运RNA近年来也被证明在心血管系统疾病中发挥功能. 浙江大学管敏鑫团

队^[71]首次构建携带线粒体tRNA基因突变(m.15927G>A)的人脐静脉内皮细胞系,检测了该突变对内皮细胞功能的影响,揭示了冠心病相关线粒体tRNA突变的致病机理,并为线粒体基因突变致病的组织特异性研究提供了新的思路。

circRNA主要通过“miRNA海绵”的作用吸附miRNA,从而解除miRNA对其靶基因的抑制作用,间接升高靶基因的表达水平。李培峰教授团队^[72]证实,心脏相关circRNA HRCR包含有6个miR-223的结合位点,过表达HRCR则可以减少miR-223的含量,从而解除miR-223对ACR的抑制从而减缓压力负荷导致的心肌肥厚。复旦大学研究团队发现,抑制血管circRNA cZNF609的表达可以升高miR-615-5p的水平从而抑制MEF2A的表达,MEF2A在血管内皮细胞的迁移及凋亡中发挥了重要的作用^[73]。

2.3 非编码RNA作为心血管疾病的分子标志物

虽然游离的RNA容易被循环中的RNA酶降解,但miRNA在循环中被微泡包裹或结合于高密度脂蛋白、Ago2、NPM1等蛋白而稳定存在。而lncRNA及circRNA则由于本身的结构比较稳定,可以在循环中稳定存在。由于ncRNA的组织特异性表达以及在特定心血管疾病中的特征性变化,ncRNA可以作为传统蛋白分子标志物的补充和替代。长海医院荆清教授团队^[74]首先报道,心脏特异表达的miR-208a在正常循环中不能被检测到,但是心肌梗死后1 h即在循环中迅速升高,而传统的蛋白标志物肌钙蛋白I/T此时在循环中尚未升高,因此miR-208a作为急性心肌梗死早期诊断的新型分子标志物具有较高的敏感性和特异性。曾春雨团队^[75]亦发现,白细胞中的lncRNA OTTHUMT-00000387022(CoroMarker)可以作为冠心病诊断的分子标志物。此外,ncRNA的变化也可以作为治疗反应的监测标志物,广东省人民医院吴书林团队^[76]发现,房颤患者血浆中miR-409-3p及miR-432的水平明显低于正常患者,但当接受房颤导管消融转复为窦性心律后,其循环中miR-409-3p及miR-432的水平可以恢复至正常水平。

2.4 非编码RNA作为心血管疾病的治療靶点

ncRNA在心血管疾病的发生和发展中发挥了重要的调控作用,因此过表达/沉默ncRNA的表达可能成为

心血管疾病转化医学的治療靶点。浙江大学陈静海团队^[77]发现,心衰患者心肌中miR-19a/19b表达降低,而通过心肌内直接注射miR-19a/19b类似物或以腺相关病毒为载体过表达miR-19a/19b可以通过早期的炎症抑制及晚期的促心肌细胞增殖而发挥减少心肌梗死面积和梗死后心衰的作用。来自沈阳军区总医院的研究表明,低温可以使心肌细胞中的lncRNA-UIHTC表达减少,而通过腺相关病毒干扰lncRNA-UIHTC的表达则可以通过PGC1途径提高线粒体对氧的摄取能力及三磷酸腺苷水平而发挥心肌保护的作用^[28,78]。虽然以miRNA为治療靶点干扰或过表达后治療慢性丙型肝炎、肝癌等疾病的I期临床研究正在进行,但在心血管疾病领域中的临床研究尚无正式报道。美国miRagen公司开发出针对miR-92的抑制剂MRG 110用于促进血管新生而加速皮肤伤口愈合,目前已开始I期临床试验(NCT临床研究注册号: 03603431)。但既往的动物实验发现,心肌梗死后抑制miR-92的表达可以通过KLF2及KLF4途径改善血管内皮功能、促进血管新生^[79,80],期待在MRG 110的后期临床试验中可能观察到对心肌梗死及梗死后心衰会产生一定的保护作用。

值得注意的是,目前以生物载体(腺病毒、腺相关病毒、慢病毒)进行的基因干预研究,由于其免疫源性、基因重组等安全问题,目前也仅限于实验室研究,要进入人体实验尚有许多问题需要解决。而心血管疾病为慢性非传染性疾病,其发生和发展不但同基因相关,还与环境、饮食、运动等多种外界因素相关,因此基因干预的作用可能有限。但对于一些以基因因素为主的遗传性家族性心血管疾病(如家族性高胆固醇血症、Brugada综合征、肥厚型心肌病、长QT综合征)等,传统治療措施有限,而以ncRNA为靶点的基因干预措施可能显示出强大的治療作用。未来基于这方面的转化研究可能成为心血管疾病领域新的突破点,期望国内科技工作者在此方面发出中国的声音,取得世界瞩目的成绩。

3 非编码RNA与感染免疫性疾病

机体的免疫系统由各种免疫器官和免疫细胞等成分组成,它们共同构成了固有免疫系统,也就是抵御病原体侵袭的非特异性免疫;还组成了主要由T细胞和B

细胞组成的适应性免疫系统。无论非特异性免疫或者适应性免疫的正常功能都受到免疫相关基因正确地表达所调控,当机体应对病原体入侵时,一些免疫相关基因也会随之发生改变,从而调控非特异性免疫的正常功能;而当免疫相关基因表达紊乱时就会导致感染免疫相关疾病的发生。近年来的研究发现,非编码RNA在转录组中所占比非常大,并且能够作为一种调控因子在免疫系统中发挥重要作用^[81,82]。非编码RNA是一类缺乏或只有有限蛋白编码能力的RNA,其占转录组90%以上^[81,82]。非编码RNA种类繁多,非编码RNA分类可参考非编码RNA与小胖威利综合征,主要包括短非编码RNA、长非编码RNA及最近才被关注的环状RNA等。短非编码RNA可分为snRNA, snoRNA, miRNA和tRNA。对于miRNA在免疫系统中的功能研究开始最早,相对而言,目前对于miRNA生理作用的认识较为透彻。而且,目前对于miRNA在免疫系统中生理作用的认识较为透彻, lncRNA、circRNA和免疫的关系也逐渐被发现及关注。关于lncRNA的研究则主要集中在最近10年,对于circRNA的研究则刚刚起步。随着测序技术的快速发展,越来越多的miRNA, lncRNA和circRNA被发现与免疫系统的发育和感染免疫性疾病密切相关。且越来越多的证据显示, lncRNA和circRNA在多种生物学过程中发挥着重要作用,其表达失调与人类疾病的发生发展密切相关。

3.1 小RNA与感染免疫性疾病

miRNA主要通过介导转录后的基因表达调控来发挥作用。miRNA能够促进靶mRNA的降解,而抑制基因表达^[83]。miRNA对于免疫细胞的功能及命运决定发挥着重要调控作用^[84,85],因此,miRNA失调与一些感染免疫性疾病的发生密切相关。第二军医大学曹雪涛团队^[86]曾报道了miR-29通过调控先天性和适应性免疫来参与抗胞内病原菌感染。他们发现,小鼠在感染李斯特菌或者牛分枝杆菌后,分泌IFN- γ 的NK细胞、CD4阳性T细胞和CD8阳性T细胞中的miR-29表达水平下调;而miR-29能直接靶向IFN- γ 的mRNA,从而抑制IFN- γ 产生。他们还发现,miR-29被阻断的转基因小鼠在感染李斯特菌后,小鼠血清IFN- γ 浓度升高,李斯特菌菌载量降低,表明miR-29通过靶向IFN- γ 来抑制免疫应答。该项研究揭示了miRNA表达与抗感染免疫之间的密切关系^[86]。此外,有研究报道miRNA能够调控巨

噬细胞介导的先天性抗病毒免疫应答。Liu等人^[87]发现,呼吸道合胞病毒感染会使得人血液中巨噬细胞和单核细胞内NDR1表达水平下调,而NDR1可以抑制miR-146a转录,miR-146a则直接靶向STAT1促进其mRNA降解,因此NDR1下调使得miR-146a表达上升,导致STAT1蛋白水平减少,干扰素诱导基因(IFN-stimulated gene, ISG)表达受到抑制,最终损害机体清除病毒的能力。同时,该团队还利用NDR1敲除小鼠发现,NDR1敲除小鼠对病毒及李斯特菌的清除能力降低。目前,miRNA参与抗病毒免疫应答调控已经被广泛证明。Pedersen等人^[88]的研究显示,IFN- β 能够促进细胞内许多miRNA的表达,而这些miRNA则能靶向HCV(hepatitis C virus)基因组RNA,从而抑制病毒复制与感染。也有报道表明,病毒来源的miRNA能够调控宿主免疫细胞的抗病毒反应^[89]。例如,Stern-Ginossar等人^[89]报道,人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)感染机体后,通过表达miRNA miR-UL112抑制宿主细胞MICB蛋白表达,进而抑制NK细胞的杀伤功能。上述研究表明,miRNA对免疫细胞具有重要的调控作用,揭示了miRNA失调与感染免疫疾病的密切关系。

3.2 长非编码RNA与感染免疫性疾病

lncRNA具有较强的细胞和组织特异性^[90],对其生理功能的探索已成为目前生命科学研究的前沿热点。在免疫系统中,一些具有重要调节功能的lncRNA陆续被鉴定出来,如lncKdm2b等。研究显示, lncRNA可以通过多种方式来调节基因表达网络,进而发挥调节作用^[91]。同样地, lncRNA表达失调也会导致机体免疫功能异常,引发相应的疾病^[92,93]。范祖森团队^[94]鉴定了一条在3型固有淋巴样细胞(group 3 innate lymphoid cell, ILC3)中高表达的lncRNA lncKdm2b。研究发现, lncKdm2b缺失的小鼠导致ILC3细胞数量减少,进而对柠檬酸杆菌的抵抗力减弱。发现lncKdm2b可以在细胞核中结合Satb1和NURF复合物,进而促进转录因子Zfp292转录,从而维持ILC3细胞的扩增,表明lncKdm2b对于ILC3细胞的扩增和稳态维持发挥重要的调节作用。

lncRNA在抗病毒免疫中也发挥着重要作用。曹雪涛团队^[95]鉴定了一条RNA病毒诱导的、在病毒感染晚期表达的lncRNAlnc-Lsm3b。他们发现, lnc-Lsm3b主要表达于巨噬细胞细胞核中, lnc-Lsm3b能够与RIG-

I相互作用而抑制RIG-I活性, 阻止I型干扰素的产生, 从而抑制免疫应答。他们还发现, lnc-Lsm3b敲除小鼠产生更多的I型干扰素。他们的研究表明, lnc-Lsm3b在病毒感染后期的免疫稳态维持中至关重要。此外, 曹雪涛团队^[96]还发现了其他免疫相关的重要lncRNA, 如lncRNA-ACOD1。他们发现, 多种病毒感染都能诱导lncRNA-ACOD1在巨噬细胞中表达上调, 且lncRNA-ACOD1表达上调不依赖于I型干扰素。他们发现, lncRNA-ACOD1敲除后, 巨噬细胞中病毒滴度减少, 且lncRNA-ACOD1敲除小鼠中VSV病毒复制受到抑制, 表明lncRNA-ACOD1能够促进病毒感染。他们发现, lncRNA-ACOD1可以和代谢相关蛋白GOT2相互作用, 进而增强其酶活, 通过调控细胞代谢的方式促进病毒复制。此项研究揭示了病毒如何通过lncRNA介导的代谢改变促进病毒自身复制, 为抗病毒治疗提供了全新的视野。在研究lncRNA如何调控抗病毒免疫中, 曹雪涛团队还发现, lncLrrc55-AS通过增强IRF3磷酸化来促进抗病毒免疫^[97]; lnczc3h7a通过TRIM25/RIG-I通路参与抗病毒免疫应答^[18,98]。此外, 陈吉龙团队^[99]发现, lncRNA NRAV能够抑制干扰素诱导基因的转录, 进而促进流感病毒IAV的复制, 负向调控抗病毒免疫反应。Carpenter等人^[100]发现, 在骨髓来源的巨噬细胞(bone marrow-derived macrophages BMDM)中, lincRNA-Cox2能够被Toll样受体信号诱导表达, 进而通过结合hnRNPs(heterogeneous nuclear ribonucleoproteins)来调控一些免疫基因(如*Il6*)的表达, 最终导致感染或炎症性疾病的发生。

在T细胞介导的抗病毒免疫中, lncRNA也发挥着同样的重要功能。张辉团队^[101]筛选到一条在CD4阳性T淋巴细胞中高表达的lncRNA NRON。他们发现, NRON可以直接介导病毒激活蛋白Tat与蛋白泛素降解复合物的结合, 从而促进Tat降解, 抑制病毒复制而发挥抗病毒作用。此外, 王建华团队^[102]的一项研究也证明了lncRNA对HIV-1病毒复制的调控作用。他们发现, HIV-1感染诱使CD4阳性T淋巴细胞中lncRNA MALAT1表达上调, 而MALAT1则能促进HIV-1复制。机制上, 他们发现, MALAT1能直接结合转录抑制复合物PCR2, 解除PCR2对HIV-1 LTR(long terminal repeat)启动子区的抑制作用, 进而促进HIV-1转录。最近, Kulkarni等人^[103]也鉴定到一条参与抗HIV免疫反应的lncRNA CCR5AS。他们发现, CCR5AS能够保护CCR5

mRNA不被RNA结合蛋白Raly介导降解, 通过促进CCR5表达使得机体易被HIV感染。上述研究揭示了lncRNA在免疫系统中的关键作用, 也为HIV的靶向治疗提供了新的思路。

3.3 环状RNA与感染免疫性疾病

circRNA具有首尾共价连接的闭合环形结构, 尽管早在20世纪70年代circRNA就被发现存在于细胞中^[104], 但局限于当时的研究手段, 其最初被认为是剪接副产物, 没有特定功能。随着高通量测序技术的发展, 越来越多的circRNA被鉴定出来, 且发现其表达具有组织或细胞特异性^[105]。对于circRNA功能的研究, 起始于最近几年, 最初的研究揭示, 神经细胞中circRNA能够发挥海绵作用而吸附miRNA来发挥功能^[106~108]。在免疫系统中, 也陆续有文献证明circRNA具有重要功能, 其表达失调导致免疫系统紊乱, 而诱发疾病^[109]。有研究报道, 转染表达外源circRNA能够结合RIG-I蛋白, 从而活化天然免疫信号, 抑制病毒感染^[110]。而范祖森团队^[109]发现一条新circRNA cia-cGAS在造血干细胞中高表达, 在造血干细胞的稳态维持中发挥重要作用。Cia-cGAS可以结合造血干细胞细胞核内的cGAS蛋白, 阻止其与造血干细胞内源DNA的结合, 进而抑制I型干扰素的产生, 从而阻止造血干细胞的分裂。此外, 陈玲玲团队^[111]发现, NF90和NF110对circRNA的形成非常重要。在病毒感染过程中, NF90和NF110被转运到细胞质中, 进而抑制病毒复制, 导致细胞内新生circRNA数量减少; 相反, 当在细胞中高表达circRNA时则能竞争NF90/NF110与病毒RNA的结合, 进而促进病毒复制。另外, 陈玲玲团队^[112]最新的研究也提示, circRNA抑制免疫细胞活化, 从而调控自身免疫病或病毒感染的发生。他们发现, circPOLR2A能够结合PKR蛋白, 从而抑制PKR活化及免疫活化。当病毒入侵时, circRNA被RNase L降解, 启动PKR活化及下游级联反应, 介导病毒清除。上述研究揭示了circRNA在调控免疫反应中发挥重要作用。然而, 目前关于circRNA在免疫系统及感染性疾病中调控作用的认识还只是冰山一角。

4 非编码RNA与代谢性疾病

近年来越来越多的研究显示, 非编码RNA在众多

的代谢疾病中扮演重要角色,参与调控细胞新陈代谢等一系列重要的生理病理过程(图4)。北京大学崔庆华团队和中国科学院数学与系统科学研究院闫桂英团队^[113]合作,在国际上首次构建并发布了长非编码RNA疾病数据库LncRNADisease,该数据库收录了166种和lncRNA有关的疾病,不仅对lncRNA与疾病之间的关系做了详细的注释,而且集成了一个生物信息学工具用以预测人类新的lncRNA和疾病的关系。该数据库自发布以来被学界广泛引用,是研究非编码RNA和代谢性疾病的有力工具。人体内代谢失衡所引起的高血糖、高血脂、肿瘤代谢失衡等会引发肥胖、糖尿病、心脑血管疾病以及肿瘤等一系列代谢性疾病,对人类健康和社会发展造成重大威胁。本章主要阐述我国科技工作者在非编码RNA与代谢性疾病领域中的研究成果。

4.1 非编码RNA与肿瘤代谢

代谢紊乱是肿瘤的主要特征之一,肿瘤细胞通过代谢重编程,例如Warburg效应促进自身的快速增殖和转移。非编码RNA在肿瘤代谢中也发挥了重要的调控作用。在表观遗传学调控方面,中国科学院生物物理研究所范祖森和陈润生团队^[114]合作发现,lncTCF7在人肝癌干细胞和肝癌组织中显著高表达,lncTCF7通过招募染色质重塑复合物SWI/SNF结合到TCF7基因的启动子区,调控TCF7基因转录,激活Wnt信号通路,从而激发肝癌干细胞的自我更新。lncRNA在常氧条件下是否参与肿瘤细胞的Warburg效应仍然不清楚,中国科学技术大学吴缅团队和澳大利亚纽卡斯尔大学张旭东团队^[115]合作发现,lncRNA IDH1-AS1可结合异柠檬酸脱氢酶1(isocitrate dehydrogenase 1, IDH1)并促进其二聚化,增加其活性。在常氧条件下,c-Myc抑制IDH1-AS1的表达,促使ROS(reactive oxygen species)的增高和 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, α -KG)的下调,进而促进HIF-1 α 的表达。lncRNA IDH1-AS1的重要性是将两个转录因子c-Myc和HIF-1 α 联系起来,共同调节肿瘤的Warburg效应。吴缅团队^[116]还发现,在低氧条件下HIF-1 α 能够诱导lncRNA-p21的上调,lncRNA-p21可以阻止VHL与HIF-1 α 之间的直接结合,HIF-1 α 因此不会被VHL所降解,上调的HIF-1 α 进一步调控肿瘤低氧下的Warburg效应。另外,吴缅团队^[117]还深入研究了环状RNA对肿瘤代谢的调控作用,发现血清饥饿条件激

活的转录因子c-Jun使ACC1基因更多表达环状CircACC1而非线性ACC1 mRNA。CircACC1通过结合AMPK的 β 1和 γ 1调节亚基,稳定并激活AMPK复合物,从而促进细胞中的脂肪酸 β 氧化和糖酵解。第一次将环状RNA与能量代谢感受器AMPK联系起来。中山大学宋尔卫和苏士成团队^[118]最近的研究发现,巨噬细胞来源的细胞外囊泡包裹着巨噬细胞所特有的lncRNA HISLA(HIF-1 α -stabilizing long noncoding RNA)。HISLA被肿瘤细胞摄取后,通过抑制HIF-1 α 与其羟化酶PHD2的结合来抑制HIF-1 α 的降解,从而维持肿瘤细胞有氧状态下HIF-1 α 信号的持续激活。与此相应,肿瘤细胞分泌的乳酸作用于巨噬细胞,也可上调巨噬细胞中HISLA的表达,从而维持巨噬细胞分泌的细胞外囊泡中HISLA的高丰度。浙江大学林爱福团队^[119]的研究显示,肿瘤在自身缺氧微环境下诱发了lncRNA CamK-A介导的钙调蛋白PNCK的高度活化,lncRNA CamK-A协助PNCK募集下游蛋白IkB α ,并介导了IkB α 第32位丝氨酸的磷酸化,从而激活了NF- κ B信号通路,同时促进GLUT3, VEGF, IL-6, IL-8等下游因子的表达,促进了肿瘤周围血管增生以及浸润型巨噬免疫细胞募集,最终实现肿瘤对自身微环境的重塑,导致肿瘤恶性增殖。浙江大学林爱福团队和加州大学欧文分校Wenqi Wang团队^[120]合作还发现,YAP可以促进lncRNA BCAR4的表达,而BCAR4能够协调Hedgehog信号通路,转录上调糖酵解途径中的重要代谢酶HK2以及PFKFB3,从而将Hippo-Hedgehog信号通路连接起来,促进肿瘤葡萄糖代谢的重编程,继而促进肿瘤生长。四川大学华西医院傅湘辉和田艳团队^[121]利用核RNA高通量测序技术,鉴定了一批能量应激调控的长链非编码RNA,并重点研究了lncRNA MITA1(metabolism-induced tumor activator 1,代谢诱导肿瘤激活子1)在诱导肝癌转移中的作用机制。在细胞营养缺乏条件下,MITA1被LKB1-AMPK和DNA甲基化作用诱导上调,随后MITA1通过提高上皮细胞-间充质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)关键因子SLUG的转录,促进EMT进程和肝癌转移。该研究表明,MITA1是肝癌转移的关键驱动因素,揭示了AMPK-MITA1-SLUG轴是一种新的肝癌防治的潜在靶标。中国科学院生物化学与细胞生物研究所刘默芳团队^[122]发现,miR-155通过激活STAT3和抑制miR-143,调控己糖激酶2(HK2),揭示了miR-155/miR-143/HK2轴可能是一

图4 部分重要的非编码RNA调控代谢疾病示意图

Figure 4 Functional roles of non-coding RNAs in metabolic diseases

种将炎症与癌细胞代谢改变联系起来的新机制。刘默芳团队^[123]还发现, 缺氧条件下肝癌细胞中miR-199a的表达明显降低, 抑制miR-199a对缺氧促进肝癌细胞糖酵解至关重要, 该工作揭示了缺氧诱导肝癌细胞糖代谢转换的新机制, 为防治肝癌提供了新的潜在靶标。

4.2 非编码RNA与糖尿病

目前, 我国的糖尿病患者人数位居全球首位, 发病率高, 医疗开支大。糖尿病会引发许多严重的并发症, 包括糖尿病足、失明、心脏病、休克、肾衰竭等, 已经成为威胁我国国民健康和生活质量的重大疾病。糖尿病病因复杂, 而探索非编码RNA参与的表现调控机制有望为糖尿病的防治提供新的策略。美国希望之城国家医学中心Wendong Huang、贝勒医学院David D. Moore和四川大学华西医院傅湘辉团队^[124]共同研究了miR-26a在肥胖和2型糖尿病中的作用。他们利用miR-26a过表达或miR-26a肝细胞特异表达的转基因小

鼠发现, 过表达miR-26a能够抑制高脂饮食所引起的代谢异常, 而在正常饮食小鼠中抑制miR-26a的表达则会引起胰岛素敏感性受损, 葡萄糖和脂肪酸的增加。进一步的研究表明, miR-26a能够靶向肝脏代谢和胰岛素信号通路的几个关键调节因子, 提示miR-26a可以作为糖尿病防治的潜在靶点。胰岛素抵抗是2型糖尿病的主要病理特征, 老年人常发生胰岛素抵抗。然而, 衰老相关的胰岛素抵抗机制仍不清楚。中南大学湘雅二医院罗湘杭团队^[125]发现, 老年小鼠骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)释放的纳米外泌体可被脂肪细胞、心肌细胞和肝细胞吸收, 导致体内和体外胰岛素抵抗。miRNA分析发现, 老年小鼠BMSCs释放的外泌体中的miR-29b-3p数量显著增加。SIRT1是miR-29b-3p调节胰岛素抵抗的下游靶点。利用适配体介导的纳米复合物传递系统下调BMSCs外泌体中的miR-29b-3p水平, 可显著改善老龄小鼠的胰岛素抵抗。瑞金医院李小英团队和上海交大医学院陈学

进团队^[126]合作研究了心理应激因素对子代糖代谢的跨代表观遗传调控作用, 结果表明, 父本应激后, 其血清中糖皮质激素水平显著升高, 从而引起精子miRNA-466b-3p启动子区域甲基化程度增加, 并遗传至子代小鼠, 导致子代肝脏中miR-466b-3p的表达水平下调, 引起PEPCK蛋白表达增加, 进而引发子代小鼠糖异生增加, 促进子代2型糖尿病的发生. 糖尿病的血管并发症是糖尿病患者发病率和死亡率的主要原因. 南京医科大学眼科医院颜标和蒋沁团队^[64]对糖尿病所致的体内视网膜微血管功能障碍的机制进行了探索, 发现lncRNA-MIAT在糖尿病视网膜病变中表达增加, MIAT可作为竞争性内源性RNA发挥作用, 并与血管内皮生长因子和miR-150-5p形成一个反馈环来调节内皮细胞功能, 从而参与病理性血管的形成. 复旦大学耳鼻喉科医院颜标与赵晨团队^[127]发现, 糖尿病患者视网膜中环状RNA分子circHIPK3通过阻断miR-30a的功能而导致内皮细胞增殖和血管功能障碍. 颜标与赵晨团队与南京医科大学眼科医院蒋沁团队^[128]合作还发现, 糖尿病应激在视网膜周细胞中上调了环状RNA分子cPWWP2A的表达, 并通过携带cPWWP2A的外泌体间接调节内皮细胞的功能. cPWWP2A可充当miR-579的海绵抑制其活性, 从而减轻糖尿病诱导的视网膜血管功能障碍. 以上研究表明, 这些关键的ncRNA可为治疗糖尿病的血管并发症提供潜在的治疗靶标.

4.3 非编码RNA与肥胖症

随着经济的快速发展和人口老龄化及生活方式的改变, 肥胖症的发病率快速增长, 发病年龄趋向更年轻化, 已成为全球重要的公共健康问题之一. 近年的研究表明, 一些非编码RNA也直接参与了肥胖症的表观遗传调控. 中国科学院动物研究所周琪、陈琦及段恩奎团队与中国科学院上海营养与健康研究所翟琦巍团队^[129]合作, 首次在哺乳动物成熟精子中发现了一类进化上保守、来源于tRNA 5'端序列、且高度富集在30~34 nt的新型小RNA-tsRNAs(tRNA-derived small RNAs), 这种tsRNAs可在受精时将父源信息带入受精卵中. 进一步研究显示, 将肥胖小鼠精子中的tsRNA片段注射到正常受精卵中, 子代小鼠在正常饮食下也会发生类似于父代肥胖小鼠的糖代谢紊乱, 该研究从精子RNA角度为研究肥胖的跨代遗传方向开拓了新的领域. 香港大学徐爱民团队^[130]发现, 肥胖患者脂肪组

织中miR-34a的表达与胰岛素抵抗程度相关, 成熟脂肪细胞分泌的外泌体将miR-34a转运到巨噬细胞中, 从而通过抑制Klf4的表达来抑制巨噬细胞M2极化. 脂肪细胞分泌的外泌体miR-34a在巨噬细胞极化、脂肪炎症和胰岛素抵抗中发挥重要作用. 近年, 皮下脂肪的“褐变”能力引起了人们对于脂肪组织这一功能的兴趣, 南京大学姜晓宏、李菁及张辰宇团队^[131]证实, 24 h禁食触发了脂肪生成和脂肪分解基因组织特异性表达, 禁食诱导的这一“内在化”过程中, miR-149-3p表达上调并直接靶向白色脂肪“褐变”必需的关键协调蛋白, 同时证实, 皮下抑制miR-149-3p表达激活了腹股沟脂肪中米色细胞形成, 提高了全身能量消耗, 这可能是对抗肥胖的一种潜在策略. 南京大学张辰宇、曾科及张峻峰团队^[132]还合作发现, 外源性植物小RNA可通过食物摄入, 可存在于各种动物的血清和组织中, 其中植物来源的MIR168a可与人/小鼠低密度脂蛋白受体接头蛋白1(low-density lipoprotein receptor adapter protein 1, LDLRAP1)的mRNA结合, 抑制肝脏中LDLRAP1的表达, 从而降低小鼠血浆中LDL的去除. 中国学者发现的小RNA能够跨界的成果在生物学界引起极大的兴趣, 虽然也有不同的观点, 但这一论文在生命医学领域中广泛引用.

4.4 非编码RNA与其他代谢疾病

骨质疏松(osteoporosis)是一种常见的全身性骨代谢性疾病, 衰老是引起老年性骨质疏松症(aged-related osteoporosis)的决定性因素. 骨髓间充质干细胞(BMSCs)在成骨过程中表现出一种年龄依赖性的减少, 伴随着向脂肪细胞分化的倾向增加, 从而导致骨丢失与骨髓腔脂肪累积, 但其具体机制仍不清楚. 中南大学湘雅二医院罗湘杭、廖二元和谢辉团队^[133]发现了决定MSCs在衰老进程中的关键miRNA分子miR-188. BMSCs在衰老过程中miR-188水平升高, 并直接作用于靶基因HDAC9和RICTOR以诱导BMSCs向脂肪细胞转换, 从而造成骨髓中脂肪堆积与骨形成减少, 最终导致老年性骨质疏松症. 而骨髓腔注射miR-188特异性拮抗剂, 可以使老年小鼠骨形成增加, 骨髓中脂肪累积减少. 该发现为治疗这类代谢性骨病提供了潜在新靶点. 罗湘杭团队和约翰·霍普金斯大学的Xu Cao团队^[134]合作筛选出在成骨血管内皮细胞高表达的MiR-497~195, 并发现其表达水平随年龄增长而降低. 他们利用

适配体投递技术将agomiR-195靶向投递于内皮细胞,可调节老年小鼠血管生成和骨形成,促进骨量上升。罗湘杭团队^[135]还进一步鉴定了一个衰老时调控BMSCs成骨微环境以及成骨-成脂分化的关键lncRNA分子Bmncr。Bmncr通过胞外基质纤调蛋白FMOD和激活BMP2通路来调控BMSCs成骨微环境。Bmncr可作为支架促进TAZ与ABL的结合从而调控BMSCs成骨-成脂分化。衰老时Bmncr表达下降,可使BMSCs向成脂分化偏移,从而导致骨质疏松。恢复BMSCs中Bmncr的表达水平则可以逆转BMSCs分化方向,该研究揭示了长非编码RNA调控老年性骨质疏松症的新机制。

肌营养不良症是指一组以进行性加重的肌无力和支配运动的肌肉变性为特征的遗传性疾病群,严重的可能会导致运动受损甚至瘫痪,来自中国医学科学院的朱大海教授^[136]证实,miR-431可以靶向Pax7,通过改变Pax7水平调节卫星细胞的异质性,miR-431的转基因小鼠有着丰富的Pax7Lo细胞亚群,其成肌分化变强,肌肉再生速度加快,并且miR-431可以减轻杜氏肌营养不良小鼠的肌营养不良表型,因此miR-431有可能作为肌营养不良症的潜在治疗靶点。

5 非编码RNA与肿瘤

建国70年来,随着我国经济、社会的发展,卫生条件的改善,传染性疾病得到了很好的控制,而非传染性疾病逐渐成为我国人民健康的主要危险因素^[137]。肿瘤目前成为仅次于心脑血管疾病的第二大类致死因素,严重威胁着我国国民健康,缩短国民寿命^[138,139]。目前对肿瘤的诊断、治疗水平仍然欠佳,人们往往谈癌色变,因此进一步提高肿瘤的诊治水平将对我国国民健康大有裨益。肿瘤之所以诊治水平欠佳,是因为肿瘤的发生发展机制比较复杂,人们对肿瘤的认识尚不完全清晰,特别是肿瘤中的关键分子机制尚未被完全阐明。非编码RNA在肿瘤中的作用逐渐被揭示,也展示出非常有前景的临床应用价值。在非编码RNA研究领域,包括小RNA、长链非编码RNA、环状RNA,我国学者都做出了卓越的贡献,于全球范围内首次鉴定了一系列肿瘤中存在的重要非编码RNA分子,阐明了这些关键非编码RNA分子在肿瘤中的表达、作用、分子机制、临床意义。既从理论上为完整认识肿瘤发生发展机制及生命活动调控过程提供了许多新的视角,

也为肿瘤的预防、诊断、治疗提供了一系列生物标志物及治疗靶点。

5.1 非编码RNA在肿瘤中的差异表达

利用miRNAs芯片、lncRNAs芯片、circRNAs芯片、小RNA测序、转录组测序,联合定量PCR验证,我国学者陆续鉴定出相对于癌旁组织,在肿瘤组织中差异表达的上百条miRNAs, lncRNAs, circRNAs。除了这些肿瘤组织中存在差异表达的非编码RNA,我国学者还鉴定出一些在耐药肿瘤组织、肿瘤转移灶、肿瘤干细胞中差异表达的非编码RNA,如舒尼替尼抵抗的肾癌组织中高表达的lncARSR^[140];去势抵抗的前列腺癌中高表达的lncRNA PCAT1^[141];替莫唑胺抵抗的胶质母细胞瘤中高表达的lnc-TALC^[142]、低表达的miR-29c^[143];肝癌门静脉癌栓中高表达的lncRNA-ATB^[144], ICR^[145];肝癌干细胞中高表达的lncTCF7^[144], lncRNA PVT1^[146], lncSox4^[147],低表达的lnc-DILC^[148];乳腺癌干细胞中低表达的let-7^[149]。肿瘤组织中差异表达的代表性非编码RNA分子见表1

5.2 非编码RNA在肿瘤发生发展过程中的作用及分子机制

利用体内、体外肿瘤生物学实验,我国学者陆续发现了大量在肿瘤中发挥促癌或抑癌作用的非编码RNA分子。前述在肿瘤中高表达的非编码RNA多发挥着促癌作用,而在肿瘤中低表达的非编码RNA多发挥着抑癌作用。具体而言,这些非编码RNA调节着肿瘤细胞的细胞周期、凋亡、增殖、代谢、自噬、干性、衰老、迁移、侵袭、药物抵抗、血管生成、肿瘤微环境中免疫细胞招募、活化等。典型的具有促癌作用的非编码RNA分子包括:miR-17-5p抑制凋亡、促进肿瘤生长^[206]; GUARDIN抑制细胞凋亡、衰老,促进肿瘤生长^[207]; BCAR4^[120], lncRNA-p21^[116], circMAT2B^[162]促进糖酵解,促进肿瘤生长; circHIPK3抑制自噬,促进细胞增殖、迁移^[208]; ICR^[145], lncBRM^[155], lncSox4^[147]增强肿瘤细胞的干性特征,促进肿瘤生长; miR-151^[150], MetaLnc9^[189], pancEts-1^[201], MITA1^[121], PAGBC^[166], circRNA FECR1^[209]促进肿瘤转移; lncRNA-ATB促进肝癌的侵袭-转移级联反应^[144]; HISLA促进糖酵解,增强化疗抵抗^[119]; lncARSR增强肾癌细胞对舒尼替尼的耐药性^[140]; lnc-

表 1 肿瘤组织、肿瘤细胞系及病人体液中异常表达的非编码RNA分子

Table 1 The aberrantly expressed noncoding RNAs in tumor tissues, cell lines and body fluids

肿瘤类型	非编码RNA类型	差异表达情况	代表性非编码RNA	参考文献
肝癌	miRNA	高表达	miR-151	[150]
		低表达	miR-199a/b-3p, miR-124, miR-200a, miR-195	[151~154]
	lncRNA	高表达	lncRNA-ATB, ICR, lncBRM, lncSox4, lnc-β-Catm, MITA1, UFC1, lncTCF7, CamK-A	[114,119,121,144,145,147,155~157]
		低表达	TCAM1P-004, RP11-598D14.1, lnc-DILC, lncRNA-LET, lncRNA-PRAL, P53RRA	[148,158~161]
	circRNA	高表达	Circ-CDYL, circβ-catenin, circMAT2B	[162,163]
		低表达	circMTO1, cSMARCA5	[164,165]
胆囊癌	lncRNA	高表达	PAGBC	[166]
		低表达	GCASPC	[167]
食管鳞癌	miRNA	高表达	miR-548k	[168]
		低表达	miR-375	[169]
	lncRNA	高表达	DNM3OS, TTN-AS1, CCAT1	[170~172]
胃癌	miRNA	低表达	miR-375	[173]
	lncRNA	高表达	HOXC-AS3, PVT1, HNF1A-AS1, GClncl, HOXA11-AS, GAPLINC, GMAN	[174~180]
结直肠癌	miRNA	低表达	miR-145, miR-150, miR-23b	[181~183]
	lncRNA	高表达	FEZF1-AS1, CCAL, CamK-A	[119,184,185]
		低表达	P53RRA	[161]
胰腺癌	lncRNA	高表达	CamK-A	[119]
		低表达	GLS-AS	[186]
肺癌	miRNA	高表达	miR-128-3p	[187]
		低表达	miR-192	[188]
	lncRNA	高表达	MetaLnc9, CamK-A	[119,189]
		低表达	P53RRA, MIR22HG	[161,190]
甲状腺癌	lncRNA	低表达	AB074169	[191]
乳腺癌	miRNA	高表达	miR-21	[192]
	lncRNA	高表达	CamK-A	[119]
		低表达	NKILA, P53RRA	[161,193]
卵巢癌	miRNA	低表达	miR-145	[181]
膀胱癌	lncRNA	高表达	MALAT1	[194]
		低表达	lnc-LBCS	[195]
前列腺癌	lncRNA	高表达	TTY15	[196]
鼻咽癌	miRNA	低表达	miR-3188	[197]
	lncRNA	低表达	P53RRA	[161]
胶质瘤	miRNA	高表达	miRNA-423-5p, miR-301a	[198,199]
	circRNA	高表达	CircNT5E	[200]
神经母细胞瘤	lncRNA	高表达	pancEts-1, GAU1	[201,202]
视网膜母细胞瘤	lncRNA	高表达	GAU1	[202]
黑色素瘤	miRNA	高表达	miR-149*	[203]
	lncRNA	高表达	OVAAL	[204]
急性髓样白血病	lncRNA	低表达	MEG3	[205]

TALC增强胶质瘤对替莫唑胺的抵抗^[142]; CamK-A招募巨噬细胞, 促进肿瘤血管形成, 促进肿瘤进展^[119]. 典型的具有抑癌作用的非编码RNA分子包括: AB074169抑制细胞周期的进展, 抑制肿瘤生长^[191]; P53RRA阻滞细胞周期进展, 诱导凋亡^[161]; miR-192抑制肺癌细胞的增殖, 诱导肺癌细胞的凋亡^[189]; miR-199a/b-3p抑制肝癌生长^[151]; IDH1-AS1抑制糖酵解, 抑制肿瘤生长^[115]; lnc-DILC^[159], lnc-LBCS^[195]抑制肿瘤细胞的干性特征, 抑制肿瘤生长; circMTO1抑制肝癌的生长、转移^[164]; NKILA^[193], lncRNA-LET^[159]抑制肿瘤转移; MPRL增强舌鳞癌细胞对顺铂化疗的敏感性^[210]; lncRNA-APC1抑制结直肠癌细胞的增殖、侵袭、血管形成^[211].

非编码RNA作为一类具有重要肿瘤生物学作用的调控性分子, 其通过直接或间接调控关键的癌基因、抑癌基因, 参与了许多关键致癌或抑癌信号通路. miRNAs的经典作用机制为: 和AGO2相互结合, 形成RNA诱导沉默复合体, 然后通过碱基互补配对, 识别、结合靶基因的mRNA, 诱导靶基因mRNA的降解、翻译抑制. 在肿瘤中, miRNAs通过以上调控机制发挥相同的作用机制, 如miR-199a/b-3p靶向抑制PAK4^[151]; let-7靶向抑制H-RAS, HMGA2^[149]; miR-21靶向抑制PDCD4^[192]; miR-151靶向抑制RhoGDIA^[150]; miR-192靶向抑制RB1^[188]; miR-375靶向抑制JAK2, IGF1R^[169,173]; miRNA-423-5p靶向抑制ING-4^[198]; miR-124靶向抑制ROCK2, EZH2^[152]; miR-149*靶向抑制GSK3 α ^[203]; miR-145靶向抑制p70S6K1^[181]; miR-301a靶向抑制SEPT7^[199]; miR-3188靶向抑制mTOR^[197]; miR-128-3p靶向抑制Axin1, SFRP2, WIF1, SMURF2, PP1c^[197]; miR-424靶向抑制PD-L1, CD80^[212]; miR-139靶向抑制CXCR4^[213]; miR-29c靶向抑制REV3L^[143]; miR-17-5p靶向抑制P130^[206]; miR-582-3p靶向抑制AXIN2, DKK3, SFRP1^[214]; miR-622靶向抑制CXCR4^[215]; miR-195靶向抑制IKK α , TAB3^[154]; miR-137靶向抑制FMNL2^[216].

我国学者在探究lncRNAs的分子机制方面也进行了大量研究, 发现了一系列的分子机制. 我国学者已报道的lncRNAs的主要分子机制包括: (i) 与蛋白质结合, 改变相结合蛋白的染色质定位、翻译后修饰、稳定性、相互作用分子等. HEIH结合组蛋白甲基转移酶EZH2, 招募EZH2至EZH2靶基因的启动子区域, 诱导

EZH2靶基因启动子区域组蛋白H3第27位赖氨酸三甲基化修饰, 从而抑制EZH2靶基因的表达^[217]. NKILA结合NF- κ B/I κ B复合体, 抑制I κ B的磷酸化修饰、NF- κ B信号通路的活化^[193]. OCC-1结合HuR蛋白, 促进HuR蛋白的泛素化修饰、降解^[218]. pancEts-1结合hnRNPK蛋白, 进而促进hnRNPK与 β -catenin蛋白的结合, 增加 β -catenin蛋白的稳定性、表达^[201]. (ii) 与DNA结合, 改变相结合区域的基因转录. lnc-DILC结合IL-6的启动子, 抑制IL-6的转录^[148]. ROR结合TESC的启动子, 排斥组蛋白甲基转移酶G9A于TESC启动子区域的结合, 减少组蛋白H3第9位赖氨酸的甲基化修饰, 活化TESC的转录^[219]. (iii) 与miRNAs结合, 扣留、吸附miRNAs, 而解除miRNAs对下游靶基因的抑制作用. TTTY15竞争性结合let-7, 上调let-7靶基因CDK6, FNI的表达^[196]. lncARSR竞争性结合miR-34, miR-449, 上调靶基因AXL, c-MET的表达^[140]. (iv) 与长链RNA分子, 包括mRNA, lncRNA, pre-mRNA, pre-miRNA结合, 调节相结合mRNA的稳定性、翻译, 相结合lncRNA的相互作用分子, pre-mRNA, pre-miRNA的剪切等. lncRNA-APC1结合Rab5b的mRNA, 减弱其稳定性^[211]. lncRNA结合mRNA的不同位点会产生不同效应. PXN-AS1-L结合PXN mRNA的3' UTR区域, 保护PXN mRNA免受miRNAs的降解, 上调PXN的表达; PXN-AS1-S结合PXN mRNA的编码区(coding domain sequence, CDS), 抑制PXN mRNA的翻译, 下调PXN的表达^[220]. lncRNA GMAN结合另一条lncRNA GMAN-AS, 竞争性地减少GMAN-AS与Ephrin A1 mRNA的结合, 进而解除GMAN-AS对Ephrin A1 mRNA翻译的抑制作用^[180]. GLS-AS结合GLS pre-mRNA, 诱导ADAR1/Dicer依赖的GLS pre-mRNA的剪切、降解, 而抑制GLS的表达^[186]. MPRL结合pre-miR-483, 减少DIECR对pre-miR-483的剪切, 进而抑制miR-483的成熟与表达^[210]. (v) 可能同时具有以上多种作用机制. lncRNA-ATB一方面可竞争性结合、吸附miR-200家族, 上调miR-200s靶基因ZEB1, ZEB2的表达, 诱导上皮间质转化, 增强肿瘤细胞侵袭能力; 另一方面还可结合IL11的mRNA, 增强IL11 mRNA的稳定性, 上调IL11的表达, 活化STAT3信号通路, 增强肿瘤细胞的存活能力^[144]. 在细胞核内, CCAT1利用其5'结构域结合PRC2, 3'结构域结合SUV39H1, 进而上调SPRY4启动子区域的组蛋白甲基化水平, 沉默SPRY4的转录; 另一方面,

细胞浆中的CCAT1还可竞争性结合miR-7, 上调miR-7靶基因*HOXB13*的表达^[172].

环状RNA的经典作用机制为特异性结合、吸附miRNAs, 而解除miRNAs对下游靶基因的抑制作用, 如circNT5E结合miR-422a, 上调miR-422a靶基因*PIK3CA*, *NT5E*的表达^[200]; circHIPK3结合miR-124, 上调*IL6R*, *STAT3*, *DLX2*的表达^[208,221]; Circ-CDYL结合miR-892a, miR-328-3p, 上调*HDGF*, *HIF1AN*的表达^[222]; circMTO1结合miR-9, 上调*p21*的表达^[164]; cSMARCA5结合miR-17-3p, miR-181b-5p, 上调*TIMP3*的表达^[165]; circMAT2B结合miR-338-3p, 上调*PKM2*的表达^[162]. 此外, 也有研究发现, 环状RNA可直接结合蛋白质, 进而改变相结合蛋白的功能, 如Circ-ACC1直接结合AMPK β , γ 亚基, 稳定AMPK复合体^[117]; circRNA FECR1结合并招募DNA去甲基化酶TET1至*FLII*启动子区域, 诱导*FLII*启动子区域的去甲基化, 活化*FLII*的表达^[209].

5.3 非编码RNA对肿瘤的诊断、预后、预测药物敏感性的临床意义

通过分析外周血、组织样本中非编码RNA的表达, 我国学者鉴定出一系列对肿瘤具有诊断、预后判断、药物敏感性分析价值的非编码RNA. 如外周血中的uc001ncr, AX800134, HULC对肝癌具有较好的诊断价值^[223,224]; circ-KLDHC10在结直肠癌患者的外周血中高表达, 有可能成为结直肠癌患者的外周血诊断标志物^[225]; 肾癌患者外周血中lncARSR的表达可指示患者对舒尼替尼的敏感性^[140].

肿瘤组织中非编码RNA的表达多和患者预后、药物敏感性相关. 如肝癌中miR-199a/b-3p^[151], miR-124^[152], miR-26^[226,227], TCAM1P-004^[158], RP11-598D14.1^[158], ICR^[145], lncSox4^[147], lnc- β -Catm^[156], lncRNA-LET^[159], UFC1^[157], lncRNA-ATB^[144], circMTO1^[164], circMAT2B^[162], cSMARCA5^[165]的表达和肝癌患者的预后相关; 胆囊癌中PAGBC^[166], GCASPC^[36,167]的表达和预后相关; 食管鳞癌中miR-375^[38,169], TTN-AS1^[171], CCAT1^[172], ENST00000435885.1^[228], XLOC_013014^[228], ENST00000547963.1^[228]的表达和预后相关; 胃癌中7个miRNAs: miR-10b, miR-21, miR-223, miR-338, let-7a, miR-30a-5p, miR-126的组合^[229], HOXC-AS3^[174],

PVT1^[175], GClncl^[177], GAPLINC^[179], GMAN^[180]的表达和预后相关; 结直肠癌中miR-150^[182], miR-17-5p^[206], lncRNA-APC1^[211], FEZF1-AS1^[184], CCAL^[185], OLA1P2^[230]的表达和预后相关; 胰腺癌中GLS-AS的表达和预后相关^[186]. 肺癌中miR-128-3p^[187], miR-582-3p^[214], P53RRA^[161], MetaLnc9^[189], MIR22HG^[190]的表达和预后相关. 乳腺癌中NKILA^[193], P53RRA^[161], HIST2H2BC^[231], SNRPEP4^[231], HISLA^[118], CamK-A^[119], BCAR4^[120], HIF1A-AS2^[232], AK124454^[232]的表达和预后相关; 卵巢癌中miR-424的表达和预后相关^[212]; 膀胱癌中lnc-LBCS^[195], MALAT1^[194]的表达和预后相关; 前列腺癌中PCAT1的表达和预后相关^[141]; 鼻咽癌中miR-3188的表达和预后相关^[197]; 胶质母细胞瘤中CircNT5E的表达和预后相关^[200]; 神经母细胞瘤中GAU1^[202], pancEts-1^[201]的表达和预后相关; 视网膜母细胞瘤中GAU1的表达和预后相关^[202]; 舌鳞癌中MPRL的表达和预后相关^[210]; 肝癌中miR-26的表达和对干扰素治疗敏感性相关^[227]; 结直肠癌中miR-150的表达和化疗敏感性相关^[182]; 肺癌中miR-128-3p的表达和化疗抵抗相关^[187].

6 长链非编码RNA、环状RNA与疾病

非编码RNA种类繁多, 本章节主要讨论长链非编码RNA及环状RNA. 非编码RNA分类可参考非编码RNA与小胖威利综合征章节. lncRNA是指长度大于200个核苷酸的线性非编码RNA转录本; circRNA是指那些具有闭合环状结构的非线性的非编码RNA; lncRNA和circRNA虽然不编码蛋白质, 但科学家们发现, 它们在生物的生殖、生长发育及衰老等正常生理过程中发挥了不可或缺的作用, 也在不同疾病和疾病状态下扮演了重要的角色, 参与调控神经系统疾病、自身免疫性疾病、心血管疾病和肿瘤等疾病的发生和发展. 自2002年lncRNA概念被正式提出以来, 已过去十余载, 无数科学家在非编码RNA与疾病和非编码RNA作用机制等领域奉献了自己的青春和热血, 其中也包括了众多中国科学家. 本章回顾了中国科学家对长链非编码RNA和环状RNA与疾病领域的贡献.

6.1 长链非编码RNA概述

lncRNA是一类结构复杂、作用机制繁多、异质

性大的RNA转录本。科学家发现,长链非编码RNA可定位在不同的亚细胞结构中,包括细胞膜、细胞浆、细胞核和核内旁斑(paraspeckle)等结构中,并且它们的功能及其调控机制和它们的亚细胞定位密切相关。细胞核中,lncRNA可结合在其调控基因的附近,这种结合可以是顺式(*in cis*)或反式(*in trans*),而后通过招募转录因子、组蛋白修饰因子或染色质修饰因子调控其靶基因的表达。转录自MYC增强子区的CCAT1-L介导了MYC启动子与MYC增强子在空间上形成染色质“环”后通过招募染色质调控因子CTCF顺式调控MYC表达^[233]。P53诱导表达的lncRNA-p21可以与hnRNPK结合,进一步与DNA甲基化修饰因子,如SETDB1和DNMT1等作用,广泛地反式调控远处数个靶基因的表达^[234]。细胞核内顺式或反式调控的lncRNA还有HOTAIR, RASSF1A, ANRIL等。此外,细胞核内的lncRNA还可以调控RNA的可变剪切,维持核内细胞器正常功能。例如MALAT1能与RNA剪切蛋白SR蛋白发生相互作用,并通过磷酸或去磷酸化水平调控SR蛋白对RNA可变剪切的活性^[235]; NEAT1能够维持核内旁斑完整性等^[236]。在细胞浆内,lncRNA能够影响蛋白质转录后修饰,调控细胞信号转导。例如可以调控细胞信号转导蛋白磷酸化的NKILA。宋尔卫教授团队^[193]发现,NKILA能够与NF-KappaB-IKB复合物稳定相连遮蔽IKB的磷酸化位点,抑制IKB磷酸化并抑制NF-KappaB信号通路的激活,从而抑制乳腺癌的转移。除了调控蛋白质转录后修饰,lncRNA还能够作为piRNA或者miRNA的前体被加工为成熟的piRNA和miRNA,或者调控mRNA稳定性影响mRNA的翻译过程;作为竞争性内源性RNA,编码短肽等。

6.2 环状RNA概述

CircRNA是一类以共价键形成闭合环状结构的特殊类型的非编码RNA。CircRNA无poly(A)尾,也无5'~3'的极性,不会被核酸外切酶Rnase R消化。CircRNA在细胞内均有分布,它们可以分布在细胞浆或者细胞核内。细胞浆中的circRNA能与miRNA形成不完全的互补配对结合抑制miRNA的功能。在哺乳动物细胞中,miRNA可以结合在mRNA的UTR区域使mRNA去腺苷酸化促进mRNA的降解并抑制mRNA的翻译,由于circRNA并不具有poly(A)尾,因此能够抵抗miRNA非经典降解机制。我国学者发现,circHIPK3含有数个miR-

124结合位点并且能够有效结合miR-124抑制miR-124功能,促进miR-124靶基因,如*IL6R*与*DLX2*上调^[208]。CircRNA还含有核糖体进入序列(internal ribosome entry site, IRES)可以通过非经典翻译途径招募核糖体并启动翻译。在脑胶质瘤中,具有编码能力的circ-FBXW7能够编码一个短肽,这个短肽降低c-myc半衰期抑制胶质瘤进展^[237]。另外国内有学者发现,circRNA的N6-甲基腺嘌呤(N6-Methyladenosine, m6A)修饰能够招募YTHDF3及翻译起始复合物,使circRNA翻译短肽而不依赖于IRES^[238]。在细胞核内的circRNA可发挥顺式或反式调控作用。Ci-ankrd52和ci-sirt7能够显著富集在其转录起始位置,并与RNA聚合酶II结合促进ankrd52和sirt7的转录^[239]。我国学者通过交联免疫沉淀技术(crosslinking and immunoprecipitation, CLIP)系统地研究了细胞中顺式作用及反式作用的circRNA^[240]。此外,circRNA可与蛋白质相互作用;调控pre-mRNA可变剪切进程和调控核糖体RNA成熟等的功能,这里不再赘述。

6.3 长链非编码RNA及环状RNA与疾病

长链非编码RNA及环状RNA与神经系统疾病。LncRNA和circRNA的异常表达将会导致神经系统疾病的发生。在阿尔兹海默症中,BACE1-AS可以与BACE1的mRNA互补结合,防止BACE1的mRNA降解,促进淀粉样蛋白的产生;体内模型敲除脑内BACE1-AS后出现淀粉样蛋白减少、小鼠阿尔兹海默症症状改善和小鼠认知学习及记忆力的改善^[241,242]。在小鼠阿尔兹海默症模型中还鉴定到了数个相对正常小鼠脑组织中异常表达的circRNA,提示circRNA在阿尔兹海默症中的潜在作用^[243]。LncRNA和circRNA可能与精神分裂相关,通过对精神分裂患者体内lncRNA分析,发现有条lncRNA差异表达;当使用抗精神病药物治疗后,数条差异表达的lncRNA下调,因此lncRNA可能是精神分裂潜在的治疗靶点^[244]。Hsa_circRNA_104597可能作为精神分裂患者诊断的潜在标记物,当单独使用hsa_circRNA_104597诊断精神分裂是可以达到敏感性87.25%和85.44%的特异度^[245]。大脑缺血后再灌注也是中枢神经系统疾病研究的重要方面。我国科学家发现,circTLK1在小鼠大脑缺血再灌注模型中发挥重要作用,当敲低circTLK1后能够促进miR-225-3p的功能,显著降低小鼠脑中梗死灶的大小,

抑制神经元的损伤, 同时改善神经症状^[246].

长链非编码RNA及环状RNA与免疫系统疾病. 系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种累及多脏器的自身免疫性炎症性结缔组织病. 研究发现, LncRNA NEAT1的异常表达和SLE患者相关. LncRNA NEAT1与患者疾病的活跃程度存在正相关, 并与临床表现有着紧密的联系. 沉默LncRNA NEAT1后, 会引起一系列的趋化因子及细胞因子, 如IL-6和CXCL10等表达的下降^[247]. 我国学者还系统全面地回顾了lncRNA在各种自身免疫性疾病, 包括类风湿性关节炎、干燥综合征等^[248]. 数个可以作为类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等免疫系统相关疾病的circRNA也被鉴定出来, 例如血浆中的circRNA_002453用于诊断狼疮性肾炎可以达到ROC曲线下面积0.906并且敏感性达到0.900的诊断效能^[249]; 其他还有hsa_circ_0044235, circPTPN22等.

长链非编码RNA及环状RNA与内分泌和代谢疾病. 胰岛素由胰岛beta细胞分泌后通过不同的胰岛素相关通路系统地作用于全身细胞影响不同系统的代谢. 在肌肉组织中, H19能够作用DUSP27使DUSP27和AMPK相互结合促进正常的胰岛素通路信号转导, 当敲除H19后会使肌肉组织呈现胰岛素抵抗的状态^[250]. 在脂肪炎症中, circARF3通过内源性竞争miR-103, 抑制miR-103功能从而影响线粒体自噬加重脂肪组织炎症^[251]. 另外, 我国学者还指出在胰岛细胞中异常的甲基化将会导致IGF2R和H19的异常表达导致小鼠糖耐量受损, 并且IGF2R和H19的异常还可以在精子中观察到, 预示着表观遗传信息的可遗传性^[252].

长链非编码RNA及环状RNA与心血管疾病. 动物胚胎发育时期, 数个lncRNA和circRNA影响了脉管系统及心脏的发育, 敲除这些关键调控因子将会导致动物模型致死性表型, 预示lncRNA和circRNA在心血管疾病中的作用. 在心肌肥厚和心脏重塑进程中, Chaer通过结合染色质调控因子PRC2广泛影响心肌肥厚相关基因的表达^[62]. CHRF作为拮抗心肌肥厚作用的miR-489的内源性竞争性RNA, 它能抑制miR-489的功能使miR-489靶基因Myd88上调, 从而促进心肌肥厚及心肌重塑的过程^[69]. CircRNA-HRCR则可以分别抑制可促进心肌肥厚miR-223的功能, 显著保护心肌正常功能防止心肌肥厚进展^[72]. 此外, lncRNA和circRNA还参与调控了心肌梗死和心脏组织更新等病理生理过

程. CAIF能够与p53结合抑制p53介导的myocardin表达, 从而抑制心肌缺血再灌注后心肌坏死^[253]. 在人类、小/大鼠心肌细胞中高度保守的circNfix能够促进YBX1与E3泛素化连接酶结合而降解抑制心肌细胞增殖, 同时还可以竞争性抑制miR-214的功能^[1].

长链非编码RNA及环状RNA与肿瘤. LncRNA及circRNA与肿瘤也是当代研究的热门话题. 我国科学家在该领域作出了杰出的贡献, 发现了在肿瘤中具有重要调控作用的数个lncRNA及circRNA. 例如, 在乳腺癌中具有抑制作用的NKILA, 在胶质瘤中抑制肿瘤进展的circ-FBXW7等. 本文已设一节详细讨论非编码RNA与肿瘤, 这里不再详述.

7 总结与展望

既往人们多关注疾病状态下蛋白编码基因的突变、功能, 但是单纯蛋白编码基因的突变并不能较好地解释各种疾病发生发展过程. 非编码区域既往被认为是基因组转录的“噪音”, 随着测序技术日新月异的进步, 通过对哺乳动物转录组的分析, 研究人员发现了一系列ncRNA, 其中包括了miRNAs, lncRNAs, circRNAs等. 后续的研究陆续发现, 基因组中非编码区域所产生的非编码RNA同样参与调控了不同疾病的发生发展过程, 甚至在不同疾病状态下起着至关重要的作用. 国内有众多课题组参与了对疾病状态中非编码RNA的研究, 也取得了大量研究成果. 首先, 发现了不同疾病状态中大量存在的差异表达非编码RNA, 包括miRNAs, lncRNAs, circRNAs, 并且发现这些差异表达的非编码RNA可以指示不同疾病状态患者的预后、药物敏感性, 外周血中的部分非编码RNA分子可以作为不同疾病状态早期诊断标志物. 其次, 我国学者对疾病状态中非编码RNA的作用进行了广泛探讨, 这些非编码RNA分子几乎调控了不同疾病状态异常细胞的各种生物学行为. 再次, 对非编码RNA的作用机制, 我国学者也鉴定出一系列新的分子机制, 为重新认识基因的转录、翻译, 细胞之间的相互作用等基本生命活动提供了新的见解. 我国科学家在ncRNA与疾病状态的领域做出了很多原创性的重要工作, 由于本文篇幅有限, 未能一一列出所有相关工作, 在此对未提及的在该领域做出贡献的我国科技工作者们表示歉意. 随着ncRNA与疾病研究的不断深入, 将揭示非编码基

因表达调控的基本规律, 鉴定不同疾病的潜在新靶标, 同疾病状态下的功能, 以及它们与不同疾病进展的关系仍亟待研究挖掘。并为其防治提供新的思路。目前对于非编码RNA在不

作者贡献说明 宋尔卫教授负责本综述的组织; 吴煌博士、许光博士、陈玲玲研究员负责撰写第一节“非编码RNA与小胖威利综合征”; 李传伟博士、吴庚泽博士、曾春雨教授负责撰写第二节“非编码RNA与心血管疾病”; 刘本宇博士、范祖森研究员负责撰写第三节“非编码RNA与感染免疫性疾病”; 朱友明博士、冯珊珊博士、吴缅教授负责撰写第四节“非编码RNA与代谢性疾病”; 袁继行博士、孙树汉教授负责撰写第五节“非编码RNA与肿瘤”; 刘子豪博士、龚畅教授负责撰写第六节“长非编码RNA和环状RNA与人类疾病”。

参考文献

- 1 Huang S, Li X, Zheng H, et al. Loss of super-enhancer-regulated circRNA Nfix induces cardiac regeneration after myocardial infarction in adult mice. *Circulation*, 2019, 139: 2857–2876
- 2 Wu H, Yang L, Chen L L. The diversity of long noncoding RNAs and their generation. *Trends Genets*, 2017, 33: 540–552
- 3 Yao R W, Wang Y, Chen L L. Cellular functions of long noncoding RNAs. *Nat Cell Biol*, 2019, 21: 542–551
- 4 Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet*, 2011, 12: 861–874
- 5 Cassidy S B, Schwartz S, Miller J L, et al. Prader-Willi syndrome. *Genet Med*, 2012, 14: 10–26
- 6 Sahoo T, del Gaudio D, German J R, et al. Prader-Willi phenotype caused by paternal deficiency for the HBII-85 C/D box small nucleolar RNA cluster. *Nat Genet*, 2008, 40: 719–721
- 7 de Smith A J, Purmann C, Walters R G, et al. A deletion of the HBII-85 class of small nucleolar RNAs (snoRNAs) is associated with hyperphagia, obesity and hypogonadism. *Hum Mol Genet*, 2009, 18: 3257–3265
- 8 Yin Q F, Yang L, Zhang Y, et al. Long noncoding RNAs with snoRNA ends. *Mol Cell*, 2012, 48: 219–230
- 9 Wu H, Yin Q F, Luo Z, et al. Unusual processing generates SPA lncRNAs that sequester multiple RNA binding proteins. *Mol Cell*, 2016, 64: 534–548
- 10 Kiss T. Small nucleolar RNA-guided post-transcriptional modification of cellular RNAs. *EMBO J*, 2001, 20: 3617–3622
- 11 Boisvert F M, van Koningsbruggen S, Navascués J, et al. The multifunctional nucleolus. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 574–585
- 12 Matera A G, Terns R M, Terns M P. Non-coding RNAs: Lessons from the small nuclear and small nucleolar RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 209–220
- 13 Filipowicz W, Pogačić V. Biogenesis of small nucleolar ribonucleoproteins. *Curr Opin Cell Biol*, 2002, 14: 319–327
- 14 Tycowski K T, Shu M D, Steitz J A. A small nucleolar RNA is processed from an intron of the human gene encoding ribosomal protein S3. *Genes Dev*, 1993, 7: 1176–1190
- 15 Kiss T, Filipowicz W. Exonucleolytic processing of small nucleolar RNAs from pre-mRNA introns. *Genes Dev*, 1995, 9: 1411–1424
- 16 Hirose T, Steitz J A. Position within the host intron is critical for efficient processing of box C/D snoRNAs in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 12914–12919
- 17 Reichow S L, Hamma T, Ferré-D'Amaré A R, et al. The structure and function of small nucleolar ribonucleoproteins. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35: 1452–1464
- 18 Samarsky D A, Fournier M J, Singer R H, et al. The snoRNA box C/D motif directs nucleolar targeting and also couples snoRNA synthesis and localization. *EMBO J*, 1998, 17: 3747–3757
- 19 Kufel J, Allmang C, Chanfreau G, et al. Precursors to the U3 small nucleolar RNA lack small nucleolar RNP proteins but are stabilized by La binding. *Mol Cell Biol*, 2000, 20: 5415–5424
- 20 Yang L, Duff M O, Graveley B R, et al. Genomewide characterization of non-polyadenylated RNAs. *Genome Biol*, 2011, 12: R16
- 21 Xing Y H, Yao R W, Zhang Y, et al. *SLERT* regulates DDX21 rings associated with Pol I transcription. *Cell*, 2017, 169: 664–678.e16
- 22 Tollervey D, Lehtonen H, Jansen R, et al. Temperature-sensitive mutations demonstrate roles for yeast fibrillarin in pre-rRNA processing, pre-

- rRNA methylation, and ribosome assembly. *Cell*, 1993, 72: 443–457
- 23 Galardi S, Fatica A, Bachi A, et al. Purified box C/D snoRNPs are able to reproduce site-specific 2'-O-methylation of target RNA *in vitro*. *Mol Cell Biol*, 2002, 22: 6663–6668
 - 24 Watkins N J, Bohnsack M T. The box C/D and H/ACA snoRNPs: Key players in the modification, processing and the dynamic folding of ribosomal RNA. *WIREs RNA*, 2012, 3: 397–414
 - 25 Bachellerie J P, Cavaillé J, Hüttenhofer A. The expanding snoRNA world. *Biochimie*, 2002, 84: 775–790
 - 26 Bazeley P S, Shepelev V, Talebizadeh Z, et al. Snotarget shows that human orphan snoRNA targets locate close to alternative splice junctions. *Gene*, 2008, 408: 172–179
 - 27 Zhang X O, Yin Q F, Wang H B, et al. Species-specific alternative splicing leads to unique expression of sno-lncRNAs. *BMC Genom*, 2014, 15: 287
 - 28 Zhang Y, Xue W, Li X, et al. The biogenesis of nascent circular RNAs. *Cell Rep*, 2016, 15: 611–624
 - 29 Shi Y, Di Giammartino D C, Taylor D, et al. Molecular architecture of the human pre-mRNA 3' processing complex. *Mol Cell*, 2009, 33: 365–376
 - 30 Xing Y H, Chen L L. Processing and roles of snoRNA-ended long noncoding RNAs. *Critical Rev Biochem Mol Biol*, 2018, 53: 596–606
 - 31 Duker A L, Ballif B C, Bawle E V, et al. Paternally inherited microdeletion at 15q11.2 confirms a significant role for the SNORD116 C/D box snoRNA cluster in Prader-Willi syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18: 1196–1201
 - 32 Cavaillé J, Buiting K, Kieffmann M, et al. Identification of brain-specific and imprinted small nucleolar RNA genes exhibiting an unusual genomic organization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 14311–14316
 - 33 Runte M, Hüttenhofer A, Gross S, et al. The IC-SNURF-SNRPN transcript serves as a host for multiple small nucleolar RNA species and as an antisense RNA for *UBE3A*. *Hum Mol Genet*, 2001, 10: 2687–2700
 - 34 Bieth E, Eddiry S, Gaston V, et al. Highly restricted deletion of the snord116 region is implicated in Prader-Willi syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23: 252–255
 - 35 Bervini S, Herzog H. Mouse models of Prader-Willi syndrome: A systematic review. *Front Neuroendocrinol*, 2013, 34: 107–119
 - 36 Gabriel J M, Merchant M, Ohta T, et al. A transgene insertion creating a heritable chromosome deletion mouse model of Prader-Willi and angelman syndromes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 9258–9263
 - 37 Stefan M, Ji H, Simmons R A, et al. Hormonal and metabolic defects in a Prader-Willi syndrome mouse model with neonatal failure to thrive. *Endocrinology*, 2005, 146: 4377–4385
 - 38 Yang T, Adamson T E, Resnick J L, et al. A mouse model for Prader-Willi syndrome imprinting-centre mutations. *Nat Genet*, 1998, 19: 25–31
 - 39 Chamberlain S J, Johnstone K A, DuBose A J, et al. Evidence for genetic modifiers of postnatal lethality in PWS-IC deletion mice. *Hum Mol Genet*, 2004, 13: 2971–2977
 - 40 Tsai T F, Jiang Y, Bressler J, et al. Paternal deletion from *Snrpn* to *Ube3a* in the mouse causes hypotonia, growth retardation and partial lethality and provides evidence for a gene contributing to Prader-Willi syndrome. *Hum Mol Genet*, 1999, 8: 1357–1364
 - 41 Ding F, Li H H, Zhang S, et al. SnoRNA Snord116 (Pwcr1/MBII-85) deletion causes growth deficiency and hyperphagia in mice. *PLoS ONE*, 2008, 3: e1709
 - 42 Skryabin B V, Gubar L V, Seeger B, et al. Deletion of the MBII-85 snoRNA gene cluster in mice results in postnatal growth retardation. *PLoS Genet*, 2007, 3: e235
 - 43 Rozhdestvensky T S, Robeck T, Galiveti C R, et al. Maternal transcription of non-protein coding RNAs from the PWS-critical region rescues growth retardation in mice. *Sci Rep*, 2016, 6: 20398
 - 44 Zhang Q, Bouma G J, McClellan K, et al. Hypothalamic expression of snoRNA Snord116 is consistent with a link to the hyperphagia and obesity symptoms of Prader-Willi syndrome. *Int J Dev Neurosci*, 2012, 30: 479–485
 - 45 Qi Y, Purtell L, Fu M, et al. Snord116 is critical in the regulation of food intake and body weight. *Sci Rep*, 2016, 6: 18614
 - 46 Burnett L C, LeDuc C A, Sulsona C R, et al. Deficiency in prohormone convertase PC1 impairs prohormone processing in Prader-Willi syndrome. *J Clin Invest*, 2017, 127: 293–305
 - 47 Vitali P, Royo H, Marty V, et al. Long nuclear-retained non-coding RNAs and allele-specific higher-order chromatin organization at imprinted snoRNA gene arrays. *J Cell Sci*, 2010, 123: 70–83
 - 48 Powell W T, Coulson R L, Gonzales M L, et al. R-loop formation at Snord116 mediates topotecan inhibition of *Ube3a-antisense* and allele-

- specific chromatin decondensation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 13938–13943
- 49 Coulson R L, Yasui D H, Dunaway K W, et al. Snord116-dependent diurnal rhythm of DNA methylation in mouse cortex. *Nat Commun*, 2018, 9: 1616
- 50 Procter M, Chou L S, Tang W, et al. Molecular diagnosis of Prader-Willi and angelman syndromes by methylation-specific melting analysis and methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification. *Clin Chem*, 2006, 52: 1276–1283
- 51 Adhikari A, Copping N A, Onaga B, et al. Cognitive deficits in the Snord116 deletion mouse model for Prader-Willi syndrome. *Neurobiol Learn Mem*, 2018, doi: 10.1016/j.nlm.2018.05.011
- 52 Altesha M A, Ni T, Khan A, et al. Circular RNA in cardiovascular disease. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 5588–5600
- 53 Lu X, Huang J, Mo Z, et al. Genetic susceptibility to lipid levels and lipid change over time and risk of incident hyperlipidemia in Chinese populations. *Circ Cardiovasc Genet*, 2015, 9: 37–44
- 54 Ning S, Yue M, Wang P, et al. LincSNP 2.0: An updated database for linking disease-associated SNPs to human long non-coding RNAs and their TFBSSs. *Nucleic Acids Res*, 2016, 45: D74–D78
- 55 Bao Z, Yang Z, Huang Z, et al. LncRNADisease 2.0: An updated database of long non-coding RNA-associated diseases. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: D1034–D1037
- 56 Li J, Zhang S, Wan Y, et al. MISIM v2.0: A web server for inferring microRNA functional similarity based on microRNA-disease associations. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: W536–W541
- 57 Chen X, Han P, Zhou T, et al. CircRNADb: A comprehensive database for human circular RNAs with protein-coding annotations. *Sci Rep*, 2016, 6: 34985
- 58 Cheng M, Yang J, Zhao X, et al. Circulating myocardial microRNAs from infarcted hearts are carried in exosomes and mobilise bone marrow progenitor cells. *Nat Commun*, 2019, 10: 959
- 59 Hu Y W, Guo F X, Xu Y J, et al. Long noncoding RNA NEXN-AS1 mitigates atherosclerosis by regulating the actin-binding protein NEXN. *J Clin Invest*, 2019, 129: 1115–1128
- 60 Wu G, Cai J, Han Y, et al. LincRNA-p21 regulates neointima formation, vascular smooth muscle cell proliferation, apoptosis, and atherosclerosis by enhancing p53 activity. *Circulation*, 2014, 130: 1452–1465
- 61 Ponnusamy M, Liu F, Zhang Y H, et al. Long noncoding RNA CPR (cardiomyocyte proliferation regulator) regulates cardiomyocyte proliferation and cardiac repair. *Circulation*, 2019, 139: 2668–2684
- 62 Wang Z, Zhang X J, Ji Y X, et al. The long noncoding RNA Chaer defines an epigenetic checkpoint in cardiac hypertrophy. *Nat Med*, 2016, 22: 1131–1139
- 63 Zhang Y, Sun L, Xuan L, et al. Long non-coding RNA CCRR controls cardiac conduction via regulating intercellular coupling. *Nat Commun*, 2018, 9: 4176
- 64 Yan B, Yao J, Liu J Y, et al. LncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA. *Circ Res*, 2015, 116: 1143–1156
- 65 Yang F, Chen Q, He S, et al. miR-22 is a novel mediator of vascular smooth muscle cell phenotypic modulation and neointima formation. *Circulation*, 2018, 137: 1824–1841
- 66 Li J, Chan M C, Yu Y, et al. miR-29b contributes to multiple types of muscle atrophy. *Nat Commun*, 2017, 8: 15201
- 67 Lan X, Yan J, Ren J, et al. A novel long noncoding RNA Lnc-HC binds hnRNPA2B1 to regulate expressions of Cyp7a1 and Abca1 in hepatocytic cholesterol metabolism. *Hepatology*, 2016, 64: 58–72
- 68 Li C, Hu Z, Zhang W, et al. Regulation of cholesterol homeostasis by a novel long non-coding RNA LASER. *Sci Rep*, 2019, 9: 7693
- 69 Wang K, Liu F, Zhou L Y, et al. The long noncoding RNA CHRF regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-489. *Circ Res*, 2014, 114: 1377–1388
- 70 Hu Y W, Zhao J Y, Li S F, et al. RP5-833A20.1/miR-382-5p/NFIA-dependent signal transduction pathway contributes to the regulation of cholesterol homeostasis and inflammatory reaction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35: 87–101
- 71 Jia Z, Zhang Y, Li Q, et al. A coronary artery disease-associated trnathr mutation altered mitochondrial function, apoptosis and angiogenesis. *Nucleic Acids Res*, 2018, 47: 2056–2074
- 72 Wang K, Long B, Liu F, et al. A circular RNA protects the heart from pathological hypertrophy and heart failure by targeting miR-223. *Eur Heart J*, 2016, 37: 2602–2611

- 73 Liu C, Yao M D, Li C P, et al. Silencing of circular RNA-ZNF609 ameliorates vascular endothelial dysfunction. *Theranostics*, 2017, 7: 2863–2877
- 74 Wang G K, Zhu J Q, Zhang J T, et al. Circulating microRNA: A novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J*, 2010, 31: 659–666
- 75 Cai Y, Yang Y, Chen X, et al. Circulating “lncRNA OTTHUMT00000387022” from monocytes as a novel biomarker for coronary artery disease. *Cardiovasc Res*, 2016, 112: 714–724
- 76 Liu T, Zhong S, Rao F, et al. Catheter ablation restores decreased plasma miR-409-3p and miR-432 in atrial fibrillation patients. *Europace*, 2015, 18: 92–99
- 77 Gao F, Kataoka M, Liu N, et al. Therapeutic role of miR-19a/19b in cardiac regeneration and protection from myocardial infarction. *Nat Commun*, 2019, 10: 1802
- 78 Zhang J, Yu L, Xu Y, et al. Long noncoding RNA upregulated in hypothermia treated cardiomyocytes protects against myocardial infarction through improving mitochondrial function. *Int J Cardiol*, 2018, 266: 213–217
- 79 Liu H, Li G, Zhao W, et al. Inhibition of miR-92a may protect endothelial cells after acute myocardial infarction in rats: Role of KLF2/4. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 2451–2462
- 80 Yu S, Hong Q, Wang Y, et al. High concentrations of uric acid inhibit angiogenesis via regulation of the Krüppel-like factor 2-vascular endothelial growth factor-A axis by miR-92a. *Circ J*, 2015, 79: 2487–2498
- 81 Djebali S, Davis C A, Merkel A, et al. Landscape of transcription in human cells. *Nature*, 2012, 489: 101–108
- 82 Carninci P, Kasukawa T, Katayama S, et al. The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science*, 2005, 309: 1559–1563
- 83 Guo H, Ingolia N T, Weissman J S, et al. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature*, 2010, 466: 835–840
- 84 Leung A K L, Sharp P A. MicroRNA functions in stress responses. *Mol Cell*, 2010, 40: 205–215
- 85 Mehta A, Baltimore D. MicroRNAs as regulatory elements in immune system logic. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16: 279–294
- 86 Ma F, Xu S, Liu X, et al. The microRNA miR-29 controls innate and adaptive immune responses to intracellular bacterial infection by targeting interferon- γ . *Nat Immunol*, 2011, 12: 861–869
- 87 Liu Z, Qin Q, Wu C, et al. Downregulated NDR1 protein kinase inhibits innate immune response by initiating an miR146a-STAT1 feedback loop. *Nat Commun*, 2018, 9: 2789
- 88 Pedersen I M, Cheng G, Wieland S, et al. Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism. *Nature*, 2007, 449: 919–922
- 89 Stern-Ginossar N, Elefant N, Zimmermann A, et al. Host immune system gene targeting by a viral miRNA. *Science*, 2007, 317: 376–381
- 90 Guttman M, Amit I, Garber M, et al. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature*, 2009, 458: 223–227
- 91 Chen Y G, Satpathy A T, Chang H Y. Gene regulation in the immune system by long noncoding RNAs. *Nat Immunol*, 2017, 18: 962–972
- 92 Mowle W K, Kotzin J J, McCright S J, et al. Control of immune cell homeostasis and function by lncRNAs. *Trends Immunol*, 2018, 39: 55–69
- 93 Agliano F, Rathinam V A, Medvedev A E, et al. Long noncoding RNAs in host-pathogen interactions. *Trends Immunol*, 2019, 40: 492–510
- 94 Liu B, Ye B, Yang L, et al. Long noncoding RNA lncKdm2b is required for ILC3 maintenance by initiation of Zfp292 expression. *Nat Immunol*, 2017, 18: 499–508
- 95 Jiang M, Zhang S, Yang Z, et al. Self-recognition of an inducible host lncRNA by RIG-I feedback restricts innate immune response. *Cell*, 2018, 173: 906–919.e13
- 96 Wang P, Xu J, Wang Y, et al. An interferon-independent lncRNA promotes viral replication by modulating cellular metabolism. *Science*, 2017, 358: 1051–1055
- 97 Zhou Y, Li M, Xue Y, et al. Interferon-inducible cytoplasmic lncLrrc55-AS promotes antiviral innate responses by strengthening IRF3 phosphorylation. *Cell Res*, 2019, 29: 641–654
- 98 Lin H, Jiang M, Liu L, et al. The long noncoding RNA lnczc3h7a promotes a TRIM25-mediated RIG-I antiviral innate immune response. *Nat Immunol*, 2019, 20: 812–823
- 99 Ouyang J, Zhu X, Chen Y, et al. NRAV, a long noncoding RNA, modulates antiviral responses through suppression of interferon-stimulated gene transcription. *Cell Host Microbe*, 2014, 16: 616–626
- 100 Carpenter S, Aiello D, Atianand M K, et al. A long noncoding RNA mediates both activation and repression of immune response genes. *Science*,

- 2013, 341: 789–792
- 101 Li J, Chen C, Ma X, et al. Long noncoding RNA NRON contributes to HIV-1 latency by specifically inducing tat protein degradation. *Nat Commun*, 2016, 7: 11730
- 102 Qu D, Sun W W, Li L, et al. Long noncoding RNA MALAT1 releases epigenetic silencing of HIV-1 replication by displacing the polycomb repressive complex 2 from binding to the LTR promoter. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 3013–3027
- 103 Kulkarni S, Lied A, Kulkarni V, et al. CCR5AS lncRNA variation differentially regulates CCR5, influencing HIV disease outcome. *Nat Immunol*, 2019, 20: 824–834
- 104 Hsu M T, Coca-Prados M. Electron microscopic evidence for the circular form of RNA in the cytoplasm of eukaryotic cells. *Nature*, 1979, 280: 339–340
- 105 Rybak-Wolf A, Stottmeister C, Glažar P, et al. Circular RNAs in the mammalian brain are highly abundant, conserved, and dynamically expressed. *Mol Cell*, 2015, 58: 870–885
- 106 Hansen T B, Jensen T I, Clausen B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*, 2013, 495: 384–388
- 107 Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 2013, 495: 333–338
- 108 Piwecka M, Glažar P, Hernandez-Miranda L R, et al. Loss of a mammalian circular RNA locus causes miRNA deregulation and affects brain function. *Science*, 2017, 357: eaam8526
- 109 Xia P, Wang S, Ye B, et al. A circular RNA protects dormant hematopoietic stem cells from DNA sensor cgas-mediated exhaustion. *Immunity*, 2018, 48: 688–701.e7
- 110 Chen Y G, Kim M V, Chen X, et al. Sensing self and foreign circular RNAs by intron identity. *Mol Cell*, 2017, 67: 228–238.e5
- 111 Li X, Liu C X, Xue W, et al. Coordinated circRNA biogenesis and function with NF90/NF110 in viral infection. *Mol Cell*, 2017, 67: 214–227.e7
- 112 Liu C X, Li X, Nan F, et al. Structure and degradation of circular RNAs regulate PKR activation in innate immunity. *Cell*, 2019, 177: 865–880.e21
- 113 Chen G, Wang Z, Wang D, et al. LncRNADisease: A database for long-non-coding RNA-associated diseases. *Nucleic Acids Res*, 2012, 41: D983–D986
- 114 Wang Y, He L, Du Y, et al. The long noncoding RNA lncTCF7 promotes self-renewal of human liver cancer stem cells through activation of Wnt signaling. *Cell Stem Cell*, 2015, 16: 413–425
- 115 Xiang S, Gu H, Jin L, et al. LncRNA IDH1-AS1 links the functions of c-Myc and HIF1 α via IDH1 to regulate the Warburg effect. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: E1465–E1474
- 116 Yang F, Zhang H, Mei Y, et al. Reciprocal regulation of HIF-1 α and lincRNA-p21 modulates the Warburg effect. *Mol Cell*, 2014, 53: 88–100
- 117 Li Q, Wang Y, Wu S, et al. CircACC1 regulates assembly and activation of AMPK complex under metabolic stress. *Cell Metab*, 2019, 30: 157–173.e7
- 118 Chen F, Chen J, Yang L, et al. Extracellular vesicle-packaged HIF-1 α -stabilizing lncRNA from tumour-associated macrophages regulates aerobic glycolysis of breast cancer cells. *Nat Cell Biol*, 2019, 21: 498–510
- 119 Sang L J, Ju H Q, Liu G P, et al. LncRNA Camk-A regulates Ca²⁺-signaling-mediated tumor microenvironment remodeling. *Mol Cell*, 2018, 72: 71–83.e7
- 120 Zheng X, Han H, Liu G P, et al. LncRNA wires up Hippo and Hedgehog signaling to reprogramme glucose metabolism. *EMBO J*, 2017, 36: 3325–3335
- 121 Ma M, Xu H, Liu G, et al. Metabolism-induced tumor activator 1 (*MITA1*), an energy stress-inducible long noncoding RNA, promotes hepatocellular carcinoma metastasis. *Hepatology*, 2019, 68: hep.30602
- 122 Jiang S, Zhang L F, Zhang H W, et al. A novel miR-155/miR-143 cascade controls glycolysis by regulating *hexokinase 2* in breast cancer cells. *EMBO J*, 2012, 31: 1985–1998
- 123 Zhang L F, Lou J T, Lu M H, et al. Suppression of miR-199a maturation by HuR is crucial for hypoxia-induced glycolytic switch in hepatocellular carcinoma. *EMBO J*, 2015, 34: 2671–2685
- 124 Fu X, Dong B, Tian Y, et al. MicroRNA-26a regulates insulin sensitivity and metabolism of glucose and lipids. *J Clin Invest*, 2015, 125: 2497–2509
- 125 Su T, Xiao Y, Xiao Y, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomal miR-29b-3p regulates aging-associated insulin resistance. *ACS Nano*, 2019, 13: 2450–2462

- 126 Wu L, Lu Y, Jiao Y, et al. Paternal psychological stress reprograms hepatic gluconeogenesis in offspring. *Cell Metab*, 2016, 23: 735–743
- 127 Shan K, Liu C, Liu B H, et al. Circular noncoding RNA HIPK3 mediates retinal vascular dysfunction in diabetes mellitus. *Circulation*, 2017, 136: 1629–1642
- 128 Liu C, Ge H M, Liu B H, et al. Targeting pericyte-endothelial cell crosstalk by circular RNA-cPWWP2A inhibition aggravates diabetes-induced microvascular dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 7455–7464
- 129 Chen Q, Yan M, Cao Z, et al. Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science*, 2016, 351: 397–400
- 130 Pan Y, Hui X, Hoo R L C, et al. Adipocyte-secreted exosomal microRNA-34a inhibits M2 macrophage polarization to promote obesity-induced adipose inflammation. *J Clin Invest*, 2019, 129: 834–849
- 131 Ding H, Zheng S, Garcia-Ruiz D, et al. Fasting induces a subcutaneous-to-visceral fat switch mediated by microRNA-149-3p and suppression of PRDM16. *Nat Commun*, 2016, 7: 11533
- 132 Zhang L, Hou D, Chen X, et al. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: Evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res*, 2012, 22: 107–126
- 133 Li C J, Cheng P, Liang M K, et al. MicroRNA-188 regulates age-related switch between osteoblast and adipocyte differentiation. *J Clin Invest*, 2015, 125: 1509–1522
- 134 Yang M, Li C J, Sun X, et al. MiR-497~195 cluster regulates angiogenesis during coupling with osteogenesis by maintaining endothelial Notch and HIF-1 α activity. *Nat Commun*, 2017, 8: 16003
- 135 Li C J, Xiao Y, Yang M, et al. Long noncoding RNA Bmncr regulates mesenchymal stem cell fate during skeletal aging. *J Clin Invest*, 2018, 128: 5251–5266
- 136 Wu R, Li H, Zhai L, et al. MicroRNA-431 accelerates muscle regeneration and ameliorates muscular dystrophy by targeting Pax7 in mice. *Nat Commun*, 2015, 6: 7713
- 137 Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in china and its provinces, 1990–2017: A systematic analysis for the global burden of disease study 2017. *Lancet*, 2019, 394: 1145–1158
- 138 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68: 394–424
- 139 Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2015, 66: 115–132
- 140 Qu L, Ding J, Chen C, et al. Exosome-transmitted lncARSR promotes sunitinib resistance in renal cancer by acting as a competing endogenous RNA. *Cancer Cell*, 2016, 29: 653–668
- 141 Shang Z, Yu J, Sun L, et al. LncRNA PCAT1 activates AKT and NF- κ B signaling in castration-resistant prostate cancer by regulating the PHLPP/FKBP51/IKK α complex. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 4211–4225
- 142 Wu P, Cai J, Chen Q, et al. Lnc-TALC promotes O6-methylguanine-DNA methyltransferase expression via regulating the c-Met pathway by competitively binding with miR-20b-3p. *Nat Commun*, 2019, 10: 2045
- 143 Luo H, Chen Z, Wang S, et al. c-Myc-miR-29c-REV3L signalling pathway drives the acquisition of temozolomide resistance in glioblastoma. *Brain*, 2015, 138: 3654–3672
- 144 Yuan J, Yang F, Wang F, et al. A long noncoding RNA activated by TGF- β promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*, 2014, 25: 666–681
- 145 Guo W, Liu S, Cheng Y, et al. ICAM-1-related noncoding RNA in cancer stem cells maintains ICAM-1 expression in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2016, 22: 2041–2050
- 146 Wang F, Yuan J H, Wang S B, et al. Oncofetal long noncoding RNA PVT1 promotes proliferation and stem cell-like property of hepatocellular carcinoma cells by stabilizing NOP2. *Hepatology*, 2014, 60: 1278–1290
- 147 Chen Z Z, Huang L, Wu Y H, et al. LncSox4 promotes the self-renewal of liver tumour-initiating cells through Stat3-mediated Sox4 expression. *Nat Commun*, 2016, 7: 12598
- 148 Wang X, Sun W, Shen W, et al. Long non-coding RNA DILC regulates liver cancer stem cells via IL-6/STAT3 axis. *J Hepatol*, 2016, 64: 1283–1294
- 149 Yu F, Yao H, Zhu P, et al. *let-7* regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell*, 2007, 131: 1109–1123
- 150 Ding J, Huang S, Wu S, et al. Gain of miR-151 on chromosome 8q24.3 facilitates tumour cell migration and spreading through downregulating

- RhoGDI*. *Nat Cell Biol*, 2010, 12: 390–399
- 151 Hou J, Lin L, Zhou W, et al. Identification of miRNomes in human liver and hepatocellular carcinoma reveals miR-199a/b-3p as therapeutic target for hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*, 2011, 19: 232–243
- 152 Zheng F, Liao Y J, Cai M Y, et al. The putative tumour suppressor microRNA-124 modulates hepatocellular carcinoma cell aggressiveness by repressing ROCK2 and EZH2. *Gut*, 2012, 61: 278–289
- 153 Yuan J, Yang F, Chen B, et al. The histone deacetylase 4/SP1/microRNA-200a regulatory network contributes to aberrant histone acetylation in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2011, 54: 2025–2035
- 154 Ding J, Huang S, Wang Y, et al. Genome-wide screening reveals that miR-195 targets the TNF- α /NF- κ B pathway by down-regulating I κ B kinase alpha and TAB3 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2013, 58: 654–666
- 155 Zhu P, Wang Y, Wu J, et al. LncBRM initiates YAP1 signalling activation to drive self-renewal of liver cancer stem cells. *Nat Commun*, 2016, 7: 13608
- 156 Zhu P, Wang Y, Huang G, et al. Lnc- β -Catm elicits EZH2-dependent β -catenin stabilization and sustains liver CSC self-renewal. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 631–639
- 157 Cao C, Sun J, Zhang D, et al. The long intergenic noncoding RNA UFC1, a target of microRNA 34a, interacts with the mRNA stabilizing protein hur to increase levels of β -catenin in HCC cells. *Gastroenterology*, 2015, 148: 415–426.e18
- 158 Xu F, Li C H, Wong C H, et al. Genome-wide screening and functional analysis identifies tumor suppressor long noncoding RNAs epigenetically silenced in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 2019, 79: 1305–1317
- 159 Yang F, Huo X, Yuan S, et al. Repression of the long noncoding RNA-LET by histone deacetylase 3 contributes to hypoxia-mediated metastasis. *Mol Cell*, 2013, 49: 1083–1096
- 160 Zhou C, Yang F, Yuan S, et al. Systemic genome screening identifies the outcome associated focal loss of long noncoding RNA PRAL in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2016, 63: 850–863
- 161 Mao C, Wang X, Liu Y, et al. A G3BP1-interacting lncRNA promotes ferroptosis and apoptosis in cancer via nuclear sequestration of p53. *Cancer Res*, 2018, 78: 3484–3496
- 162 Li Q, Pan X, Zhu D, et al. Circular RNA MAT2B promotes glycolysis and malignancy of hepatocellular carcinoma through the miR-338-3p/PKM2 axis under hypoxic stress. *Hepatology*, 2019, 70: 1298–1316
- 163 Liang W C, Wong C W, Liang P P, et al. Translation of the circular RNA circ β -catenin promotes liver cancer cell growth through activation of the Wnt pathway. *Genome Biol*, 2019, 20: 84
- 164 Han D, Li J, Wang H, et al. Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression. *Hepatology*, 2017, 66: 1151–1164
- 165 Yu J, Xu Q G, Wang Z G, et al. Circular RNA cSMARCA5 inhibits growth and metastasis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2018, 68: 1214–1227
- 166 Wu X S, Wang F, Li H F, et al. LncRNA-PAGBC acts as a microRNA sponge and promotes gallbladder tumorigenesis. *EMBO Rep*, 2017, 18: 1837–1853
- 167 Ma M Z, Zhang Y, Weng M Z, et al. Long noncoding RNA GCASPC, a target of miR-17-3p, negatively regulates pyruvate carboxylase-dependent cell proliferation in gallbladder cancer. *Cancer Res*, 2016, 76: 5361–5371
- 168 Song Y, Li L, Ou Y, et al. Identification of genomic alterations in oesophageal squamous cell cancer. *Nature*, 2014, 509: 91–95
- 169 Kong K L, Kwong D L W, Chan T H M, et al. MicroRNA-375 inhibits tumour growth and metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma through repressing insulin-like growth factor 1 receptor. *Gut*, 2012, 61: 33–42
- 170 Zhang H, Hua Y, Jiang Z, et al. Cancer-associated fibroblast-promoted lncRNA DN3OS confers radioresistance by regulating DNA damage response in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2019, 25: 1989–2000
- 171 Lin C, Zhang S, Wang Y, et al. Functional role of a novel long noncoding RNA TTN-AS1 in esophageal squamous cell carcinoma progression and metastasis. *Clin Cancer Res*, 2018, 24: 486–498
- 172 Zhang E, Han L, Yin D, et al. H3K27 acetylation activated-long non-coding RNA CCAT1 affects cell proliferation and migration by regulating SPRY4 and HOXB13 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Nucleic Acids Res*, 2016, 45: 3086–3101
- 173 Ding L, Xu Y, Zhang W, et al. MiR-375 frequently downregulated in gastric cancer inhibits cell proliferation by targeting JAK2. *Cell Res*, 2010, 20: 784–793

- 174 Zhang E, He X, Zhang C, et al. A novel long noncoding RNA HOXC-AS3 mediates tumorigenesis of gastric cancer by binding to YBX1. [Genome Biol](#), 2018, 19: 154
- 175 Xu M D, Wang Y, Weng W, et al. A positive feedback loop of lncRNA-PVT1 and FOXM1 facilitates gastric cancer growth and invasion. [Clin Cancer Res](#), 2017, 23: 2071–2080
- 176 Liu H T, Liu S, Liu L, et al. EGR1-mediated transcription of lncRNA-HNF1A-AS1 promotes cell cycle progression in gastric cancer. [Cancer Res](#), 2018, 78: 5877–5890
- 177 Sun T T, He J, Liang Q, et al. LncRNA GCInc1 promotes gastric carcinogenesis and may act as a modular scaffold of WDR5 and KAT2A complexes to specify the histone modification pattern. [Cancer Discov](#), 2016, 6: 784–801
- 178 Sun M, Nie F, Wang Y, et al. LncRNA HOXA11-AS promotes proliferation and invasion of gastric cancer by scaffolding the chromatin modification factors PRC2, LSD1, and DNMT1. [Cancer Res](#), 2016, 76: 6299–6310
- 179 Hu Y, Wang J, Qian J, et al. Long noncoding RNA GAPLINC regulates CD44-dependent cell invasiveness and associates with poor prognosis of gastric cancer. [Cancer Res](#), 2014, 74: 6890–6902
- 180 Zhuo W, Liu Y, Li S, et al. Long noncoding RNA GMAN, up-regulated in gastric cancer tissues, is associated with metastasis in patients and promotes translation of ephrin A1 by competitively binding *GMAN-AS*. [Gastroenterology](#), 2019, 156: 676–691.e11
- 181 Xu Q, Liu L Z, Qian X, et al. MiR-145 directly targets p70S6K1 in cancer cells to inhibit tumor growth and angiogenesis. [Nucleic Acids Res](#), 2011, 40: 761–774
- 182 Ma Y, Zhang P, Wang F, et al. MiR-150 as a potential biomarker associated with prognosis and therapeutic outcome in colorectal cancer. [Gut](#), 2012, 61: 1447–1453
- 183 Zhang H, Hao Y, Yang J, et al. Genome-wide functional screening of miR-23b as a pleiotropic modulator suppressing cancer metastasis. [Nat Commun](#), 2011, 2: 554
- 184 Bian Z, Zhang J, Li M, et al. LncRNA-FEZFI-AS1 promotes tumor proliferation and metastasis in colorectal cancer by regulating PKM2 signaling. [Clin Cancer Res](#), 2018, 24: 4808–4819
- 185 Ma Y, Yang Y, Wang F, et al. Long non-coding RNA CCAL regulates colorectal cancer progression by activating Wnt/ β -catenin signalling pathway via suppression of activator protein 2 α . [Gut](#), 2016, 65: 1494–1504
- 186 Deng S J, Chen H Y, Zeng Z, et al. Nutrient stress-dysregulated antisense lncRNA GLS-AS impairs GLS-mediated metabolism and represses pancreatic cancer progression. [Cancer Res](#), 2019, 79: 1398–1412
- 187 Cai J, Fang L, Huang Y, et al. Simultaneous overactivation of Wnt/ β -catenin and TGF β signalling by miR-128-3p confers chemoresistance-associated metastasis in NSCLC. [Nat Commun](#), 2017, 8: 15870
- 188 Feng S, Cong S, Zhang X, et al. MicroRNA-192 targeting retinoblastoma 1 inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in lung cancer cells. [Nucleic Acids Res](#), 2011, 39: 6669–6678
- 189 Yu T, Zhao Y, Hu Z, et al. Metalnc9 facilitates lung cancer metastasis via a PGK1-activated AKT/mTOR pathway. [Cancer Res](#), 2017, 77: 5782–5794
- 190 Su W, Feng S, Chen X, et al. Silencing of long non-coding RNA MIR22HG triggers cell survival/death signaling via oncogenes YBX1, MET, and p21 in lung cancer. [Cancer Res](#), 2018, 78: 3207–3219
- 191 Gou Q, Gao L, Nie X, et al. Long noncoding RNA AB074169 inhibits cell proliferation via modulation of KHSRP-mediated CDKN1a expression in papillary thyroid carcinoma. [Cancer Res](#), 2018, 78: 4163–4174
- 192 Du J, Yang S, An D, et al. BMP-6 inhibits microRNA-21 expression in breast cancer through repressing δ EF1 and AP-1. [Cell Res](#), 2009, 19: 487–496
- 193 Liu B, Sun L, Liu Q, et al. A cytoplasmic NF- κ B interacting long noncoding RNA blocks I κ B phosphorylation and suppresses breast cancer metastasis. [Cancer Cell](#), 2015, 27: 370–381
- 194 Fan Y, Shen B, Tan M, et al. TGF- β -induced upregulation of *malat1* promotes bladder cancer metastasis by associating with suz12. [Clin Cancer Res](#), 2014, 20: 1531–1541
- 195 Chen X, Xie R, Gu P, et al. Long noncoding RNA LBCS inhibits self-renewal and chemoresistance of bladder cancer stem cells through epigenetic silencing of SOX2. [Clin Cancer Res](#), 2019, 25: 1389–1403
- 196 Yao J, Kong D, Ye C, et al. The long noncoding RNA TTTY15, which is located on the y chromosome, promotes prostate cancer progression by sponging let-7. [Eur Urol](#), 2019, 76: 315–326

- 197 Zhao M, Luo R, Liu Y, et al. MiR-3188 regulates nasopharyngeal carcinoma proliferation and chemosensitivity through a FOXO1-modulated positive feedback loop with mTOR-p-PI3K/AKT-c-JUN. *Nat Commun*, 2016, 7: 11309
- 198 Li S, Zeng A, Hu Q, et al. MiR-423-5p contributes to a malignant phenotype and temozolomide chemoresistance in glioblastomas. *Neuro Oncol*, 2016, 19: 55–65
- 199 Yue X, Cao D, Lan F M, et al. MiR-301a is activated by the Wnt/ β -catenin pathway and promotes glioma cell invasion by suppressing SEPT7. *Neuro Oncol*, 2016, 18: 1288–1296
- 200 Wang R, Zhang S, Chen X, et al. CircNT5E acts as a sponge of miR-422a to promote glioblastoma tumorigenesis. *Cancer Res*, 2018, 78: 4812–4825
- 201 Li D, Wang X, Mei H, et al. Long noncoding RNA pancEts-1 promotes neuroblastoma progression through hnRNPK-mediated β -catenin stabilization. *Cancer Res*, 2018, 78: 1169–1183
- 202 Chai P, Jia R, Jia R, et al. Dynamic chromosomal tuning of a novel *GAUI* lncing driver at chr12p13.32 accelerates tumorigenesis. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 6041–6056
- 203 Jin L, Hu W L, Jiang C C, et al. MicroRNA-149*, a p53-responsive microRNA, functions as an oncogenic regulator in human melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 15840–15845
- 204 Sang B, Zhang Y Y, Guo S T, et al. Dual functions for OVAAL in initiation of RAF/MEK/ERK prosurvival signals and evasion of p27-mediated cellular senescence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: E11661–E11670
- 205 Lyu Y, Lou J, Yang Y, et al. Dysfunction of the WT1-MEG3 signaling promotes AML leukemogenesis via p53-dependent and -independent pathways. *Leukemia*, 2017, 31: 2543–2551
- 206 Ma Y, Zhang P, Wang F, et al. Elevated oncofetal miR-17-5p expression regulates colorectal cancer progression by repressing its target gene *P130*. *Nat Commun*, 2012, 3: 1291
- 207 Hu W L, Jin L, Xu A, et al. Guardian is a p53-responsive long non-coding RNA that is essential for genomic stability. *Nat Cell Biol*, 2018, 20: 492–502
- 208 Zheng Q, Bao C, Guo W, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. *Nat Commun*, 2016, 7: 11215
- 209 Chen N, Zhao G, Yan X, et al. A novel *FLII* exonic circular RNA promotes metastasis in breast cancer by coordinately regulating TET1 and DNMT1. *Genome Biol*, 2018, 19: 218
- 210 Tian T, Lv X, Pan G, et al. Long noncoding RNA MPRL promotes mitochondrial fission and cisplatin chemosensitivity via disruption of pre-miRNA processing. *Clin Cancer Res*, 2019, 25: 3673–3688
- 211 Wang F W, Cao C H, Han K, et al. APC-activated long noncoding RNA inhibits colorectal carcinoma pathogenesis through reduction of exosome production. *J Clin Invest*, 2019, 129: 727–743
- 212 Xu S, Tao Z, Hai B, et al. MiR-424(322) reverses chemoresistance via T-cell immune response activation by blocking the PD-L1 immune checkpoint. *Nat Commun*, 2016, 7: 11406
- 213 Bao W, Fu H J, Xie Q S, et al. HER2 interacts with CD44 to up-regulate CXCR4 via epigenetic silencing of microRNA-139 in gastric cancer cells. *Gastroenterology*, 2011, 141: 2076–2087.e6
- 214 Fang L, Cai J, Chen B, et al. Aberrantly expressed miR-582-3p maintains lung cancer stem cell-like traits by activating Wnt/ β -catenin signalling. *Nat Commun*, 2015, 6: 8640
- 215 Liu H, Liu Y, Liu W, et al. EZH2-mediated loss of miR-622 determines CXCR4 activation in hepatocellular carcinoma. *Nat Commun*, 2015, 6: 8494
- 216 Liang L, Li X, Zhang X, et al. MicroRNA-137, an HMGA1 target, suppresses colorectal cancer cell invasion and metastasis in mice by directly targeting FMNL2. *Gastroenterology*, 2013, 144: 624–635.e4
- 217 Yang F, Zhang L, Huo X, et al. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans. *Hepatology*, 2011, 54: 1679–1689
- 218 Lan Y, Xiao X, He Z, et al. Long noncoding RNA OCC-1 suppresses cell growth through destabilizing HuR protein in colorectal cancer. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 5809–5821
- 219 Fan J, Xing Y, Wen X, et al. Long non-coding RNA ROR decoys gene-specific histone methylation to promote tumorigenesis. *Genome Biol*, 2015, 16: 139

- 220 Yuan J H, Liu X N, Wang T T, et al. The MBNL3 splicing factor promotes hepatocellular carcinoma by increasing PXN expression through the alternative splicing of lncRNA-PXN-AS1. *Nat Cell Biol*, 2017, 19: 820–832
- 221 Chen X, Mao R, Su W, et al. Circular RNA circHIPK3 modulates autophagy via MIR124-3p-STAT3-PRKAA/AMPK α signaling in STK11 mutant lung cancer. *Autophagy*, 2019, 17: 1–13
- 222 Wei Y, Chen X, Liang C, et al. A noncoding regulatory RNAs network driven by circ-CDYL acts specifically in the early stages hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2019, 67: hep.30795
- 223 Wang K, Guo W X, Li N, et al. Serum lncRNAs profiles serve as novel potential biomarkers for the diagnosis of HBV-positive hepatocellular carcinoma. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0144934
- 224 Xie H, Ma H, Zhou D. Plasma HULC as a promising novel biomarker for the detection of hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 1–5
- 225 Li Y, Zheng Q, Bao C, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: A promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Res*, 2015, 25: 981–984
- 226 Yang X, Zhang X F, Lu X, et al. MicroRNA-26a suppresses angiogenesis in human hepatocellular carcinoma by targeting hepatocyte growth factor-cMet pathway. *Hepatology*, 2014, 59: 1874–1885
- 227 Ji J, Shi J, Budhu A, et al. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer. *N Engl J Med*, 2009, 361: 1437–1447
- 228 Li J, Chen Z, Tian L, et al. LncRNA profile study reveals a three-lncRNA signature associated with the survival of patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Gut*, 2014, 63: 1700–1710
- 229 Li X, Zhang Y, Zhang Y, et al. Survival prediction of gastric cancer by a seven-microRNA signature. *Gut*, 2010, 59: 579–585
- 230 Guo H, Liu J, Ben Q, et al. The aspirin-induced long non-coding RNA OLA1P2 blocks phosphorylated STAT3 homodimer formation. *Genome Biol*, 2016, 17: 24
- 231 Liu Y R, Jiang Y Z, Xu X E, et al. Comprehensive transcriptome profiling reveals multigene signatures in triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2016, 22: 1653–1662
- 232 Jiang Y Z, Liu Y R, Xu X E, et al. Transcriptome analysis of triple-negative breast cancer reveals an integrated mRNA-lncRNA signature with predictive and prognostic value. *Cancer Res*, 2016, 76: 2105–2114
- 233 Xiang J F, Yin Q F, Chen T, et al. Human colorectal cancer-specific CCAT1-L lncRNA regulates long-range chromatin interactions at the *MYC* locus. *Cell Res*, 2014, 24: 513–531
- 234 Bao X, Wu H, Zhu X, et al. The p53-induced lincRNA-p21 derails somatic cell reprogramming by sustaining H3K9me3 and CpG methylation at pluripotency gene promoters. *Cell Res*, 2015, 25: 80–92
- 235 Fang Z, Zhang S, Wang Y, et al. Long non-coding RNA MALAT-1 modulates metastatic potential of tongue squamous cell carcinomas partially through the regulation of small proline rich proteins. *BMC Cancer*, 2016, 16: 706
- 236 Huangfu N, Cheng J S, Wang Y, et al. Neat1 regulates oxidized low-density lipoprotein-induced inflammation and lipid uptake in macrophages via paraspeckle formation. *Mol Med Rep*, 2017, 17: 3092–3098
- 237 Yang Y, Gao X, Zhang M, et al. Novel role of FBXW7 circular RNA in repressing glioma tumorigenesis. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110: 304–315
- 238 Yang Y, Fan X, Mao M, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N6-methyladenosine. *Cell Res*, 2017, 27: 626–641
- 239 Zhang Y, Zhang X O, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs. *Mol Cell*, 2013, 51: 792–806
- 240 Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22: 256–264
- 241 Zeng T, Ni H, Yu Y, et al. BACE1-AS prevents BACE1 mRNA degradation through the sequestration of BACE1-targeting miRNAs. *J Chem Neuroanat*, 2019, 98: 87–96
- 242 Zhang W, Zhao H, Wu Q, et al. Knockdown of BACE1-AS by siRNA improves memory and learning behaviors in Alzheimer's disease animal model. *Exp Ther Med*, 2018, 16: 2080–2086
- 243 Huang J L, Xu Z H, Yang S M, et al. Identification of differentially expressed profiles of Alzheimer's disease associated circular RNAs in a panax notoginseng saponins-treated Alzheimer's disease mouse model. *Comput Struct Biotech J*, 2018, 16: 523–531
- 244 Chen S, Sun X, Niu W, et al. Aberrant expression of long non-coding RNAs in schizophrenia patients. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 3340–3351
- 245 Yao G, Niu W, Zhu X, et al. *hsa_circRNA_104597*: A novel potential diagnostic and therapeutic biomarker for schizophrenia. *Biomark Med*, 2018, 13: 331–340

- 246 Wu F F, Yao H H. Circular RNA TLK1 aggravates neuronal injury and long-term neurological deficits via miR-335-3p/TIPARP after ischemic stroke. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2018, 32: 18–19
- 247 Zhang F, Wu L, Qian J, et al. Identification of the long noncoding RNA NEAT1 as a novel inflammatory regulator acting through MAPK pathway in human lupus. *J Autoimmun*, 2016, 75: 96–104
- 248 Tang Y, Zhou T, Yu X, et al. The role of long non-coding RNAs in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*, 2017, 13: 657–669
- 249 Ouyang Q, Huang Q, Jiang Z, et al. Using plasma circRNA_002453 as a novel biomarker in the diagnosis of lupus nephritis. *Mol Immunol*, 2018, 101: 531–538
- 250 Geng T, Liu Y, Xu Y, et al. H19 lncRNA promotes skeletal muscle insulin sensitivity in part by targeting AMPK. *Diabetes*, 2018, 67: 2183–2198
- 251 Zhang Z, Zhang T, Feng R, et al. CirCARF3 alleviates mitophagy-mediated inflammation by targeting miR-103/TRAF3 in mouse adipose tissue. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 14: 192–203
- 252 Ding G L, Wang F F, Shu J, et al. Transgenerational glucose intolerance with *Igf2/H19* epigenetic alterations in mouse islet induced by intrauterine hyperglycemia. *Diabetes*, 2012, 61: 1133–1142
- 253 Liu C Y, Zhang Y H, Li R B, et al. LncRNA CAIF inhibits autophagy and attenuates myocardial infarction by blocking p53-mediated myocardin transcription. *Nat Commun*, 2018, 9: 29

Progress in non-coding RNA research

CHEN LingLing¹, FENG ShanShan², FAN ZuSen³, GONG Chang⁴, LIU BenYu³, LIU ZiHao⁴,
LI ChuanWei^{5,6}, SONG ErWei⁴, SUN ShuHan⁷, WU GengZe^{5,6}, WU Huang^{1,8}, WU Mian⁹,
XU Guang¹, YUAN JiHang⁷, ZENG ChunYu^{5,6} & ZHU YouMing¹⁰

1 State Key Laboratory of Molecular Biology, Shanghai Key Laboratory of Molecular Andrology, CAS Center for Excellence in Molecular Cell Science, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;

2 Key Laboratory of Regenerative Medicine, Ministry of Education, Institute of Aging and Regenerative Medicine, College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

3 Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

4 Department of Breast Surgery, Breast Tumor Center, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China;

5 Department of Cardiology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 401220, China;

6 Chongqing Cardiovascular Clinical Research Center, Chongqing 401220, China;

7 Department of Medical Genetics, Department of Basic Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China;

8 Department of Blood Transfusion, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China;

9 School of Life Sciences and Medicine, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

10 Key Laboratory of Stomatology, Medicine School of Stomatology, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

Non-coding RNAs (ncRNAs), including transfer RNAs, ribosomal RNAs, small nucleolar RNAs (snoRNAs), and long noncoding RNAs (lncRNAs), are referred to as RNAs without a coding potential. It is widely acknowledged that they play important regulation roles in different biological processes of human life, such as individual development, growth and reproduction; apoptosis, differentiation and reprogramming of cells. Of great importance, ncRNAs are shown to be closely associated with human diseases. In recent years, with the development of Chinese economy and the tendency of population aging; cardiovascular diseases, tumors, metabolic diseases and other diseases rise to major chronic non-communicable diseases that threaten the health of Chinese residents. In addition, due to the huge population of China, some rare diseases such as Prader-Willi syndrome (PWS) also affect the health of its residents. Chinese scientists have found that non-coding RNAs are highly associated with these diseases in exploring the development of these diseases, and they notice that ncRNAs are involved in the regulation of a series of cardiovascular diseases, tumors, metabolic diseases, infectious immunological diseases and PWS. This review focuses on advances in ncRNAs contributed by Chinese scholars. We summarize the formation, processing as well as the functions of non-coding RNAs and review the important regulatory roles of these non-coding RNAs in PWS, cardiovascular diseases, tumors, metabolic diseases as well as infectious immune diseases.

non-coding RNAs, cardiovascular disease, infection and immunological disease, metabolic disease, tumor, nervous system disease, endocrine system disease

doi: 10.1360/SSV-2019-0179