

• 基础研究 •

冠心病相关长链非编码 RNA uc004coz.1 的生物学功能与序列分析

李平^{1,2}, 王峰^{1,3}, 李渊^{1,4*}¹南京医科大学姑苏学院, 江苏 苏州 215000; ²南京医科大学附属苏州医院(苏州市立医院)中心实验室, ³药剂科, ⁴心血管内科, 江苏 苏州 215000

[摘要] 目的: 初步了解冠心病相关长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) uc004coz.1 的生物学功能并分析其基因序列信息。方法: 通过对冠心病患者血浆测序结果中下调表达的 lncRNA 进行分析以及临床样本验证发现目标 lncRNA uc004coz.1。在人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 中使用荧光原位杂交技术对 uc004coz.1 进行细胞定位, siRNA 敲减 uc004coz.1 后分析其生物学功能, 通过 CCK-8、Transwell、EdU 染色、流式细胞术、Western blot 实验分析 uc004coz.1 敲减对细胞增殖和迁移的影响, 并通过 cDNA 末端快速扩增 (rapid-amplification of cDNA end, RACE) 实验获得 uc004coz.1 的全长序列信息。结果: 临床样本验证发现 uc004coz.1 在冠心病患者中表达下调。uc004coz.1 主要定位在 HUVEC 细胞核, 敲减后细胞的增殖迁移明显减弱, 并且细胞周期相关蛋白 Cyclin D1 与 Cyclin E1 表达下调。通过与 Ensembl 数据库 RNA 序列和基因组进行比对, 得到 uc004coz.1 对应的染色体为 *Homo sapiens* mitochondrion, complete genome (序列编号: NC_012920.1)。检索数据库发现 uc004coz.1 在此染色体中的位置为 15 998~16 569。5'-RACE 测序结果显示 5' 末端位置为 16 033, 3'-RACE 测序结果显示 3'-RACE 末端位置为 16 417。结论: 了解冠心病患者血浆中下调的 lncRNA uc004coz.1 的生物学功能并分析其基因序列, 能够为冠心病的机制研究提供一个靶点, 也能够为 uc004coz.1 的深入研究提供理论基础。

[关键词] 冠心病; 长链非编码 RNA; uc004coz.1; 细胞增殖; 细胞迁移; RACE 实验**[中图分类号]** R541.4**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2025)12-1738-09**doi:** 10.7655/NYDXBNSN240801

Biological function and sequence analysis of lncRNA uc004coz.1 associated with coronary artery disease

LI Ping^{1,2}, WANG Feng^{1,3}, LI Yuan^{1,4*}¹Gusu School, Nanjing Medical University, Suzhou 215000; ²Department of Central Laboratory, ³Department of Pharmacy, ⁴Department of Cardiovascular Medicine, the Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University (Suzhou Municipal Hospital), Suzhou 215000, China

[Abstract] **Objective:** To analyze the biological functions and gene sequence information of long non-coding RNA (lncRNA) uc004coz.1 associated with coronary artery disease (CAD). **Methods:** lncRNAs were analyzed in plasma sequencing results of CAD patients. The target lncRNA uc004coz.1 was identified by clinical sample verification. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) method was used to locate uc004coz.1 in human umbilical vein endothelial cell (HUVEC), and its biological function was analyzed after knockdown with si-uc004coz.1. The effect on cell proliferation and migration was analyzed by CCK-8, Transwell, EdU, flow cytometry, and Western blot. The full length sequence information of uc004coz.1 was obtained by rapid-amplification of cDNA ends (RACE) technique. **Results:** uc004coz.1 was down-regulated in CAD patients, and uc004coz.1 is mainly located in the nucleus. Cell proliferation and migration were significantly weakened after uc004coz.1 knockdown, and cell cycle-related proteins Cyclin D1 and Cyclin E1 were down-regulated. By comparing the RNA sequence and genome in the Ensembl database, we obtained that uc004coz.1 corresponding chromosome is *Homo sapiens* mitochondrion, complete genome (sequence ID: NC_01292-1). The location of uc004coz.1 in the database is 15 998–16 569. The 5'-RACE sequencing results showed that the 5' terminal position was 16 033. The 3'-RACE

[基金项目] 国家重点研发计划 (2021YFC2500600, 2021YFC2500602); 苏州市“科教兴卫”青年科技项目 (KJXW2021039); 苏州市科技发展计划(医疗卫生科技创新-医学创新应用研究)(SKYD2022129, SYKD2022130, SKYXD2022088)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: liyuan1596215@163.com (ORCID: 0000-0003-2692-786X)

sequencing results showed that the terminal position of 3'-RACE was 16 417. **Conclusion:** Understanding the biological function of down-regulated lncRNA uc004coz.1 in the plasma of CAD patients and analyzing its gene sequence can provide a target for the study of the mechanism of CAD and provide a theoretical basis for further study of uc004coz.1.

[Key words] coronary artery disease; long noncoding RNA; uc004coz.1; cell proliferation; cell migration; rapid-amplification of cDNA end

[J Nanjing Med Univ, 2025, 45(12): 1738-1746]

大量研究证明长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)在冠心病(coronary artery disease, CAD)及其亚型中发挥重要作用, lncRNA被认为是新的功能调控分子, 参与动脉粥样硬化、心肌梗死、心力衰竭、心绞痛和冠状动脉慢性完全闭塞等疾病的发生发展^[1]。ANRIL、KCNQ1OT1和GAS5等lncRNA与CAD及急性心肌梗死疾病可能有一定相关性^[2-3]。内皮细胞(endothelial cell, EC)功能受损被认为是早期动脉粥样硬化的起始因素, lncRNA通过调节血管EC的增殖、凋亡和血管生成, 抑制血管凋亡或修复血管EC损伤, 影响动脉粥样硬化的发生发展, 在动脉粥样硬化的预防和治疗中发挥重要作用^[4]。当脂质代谢紊乱时, 脂质积聚在动脉内壁形成斑块, 也影响斑块的稳定性, 引起血管腔狭窄。实验发现, lncRNA MALAT1作为miR-141-3p/200A-3p的竞争性内源RNA(competing endogenous RNA, ceRNA), 能够增加含卷曲螺旋结构域80(containing coiled helix domain 80, CCDC80)的表达, 导致脂蛋白脂肪酶(lipase lipoprotein, LPL)表达下调, 从而加速冠心病的发展^[5-6]。其他具有类似调节脂质代谢作用的lncRNA还包括lncRNA LSTR^[7]和lncRNA DYNLRB2-2^[8]。相反, Mexis的缺失改变了ATP结合盒转运蛋白A1(ATP-binding cassette transporter 1, ABCA1)的染色体结构, 降低了细胞对胆固醇过载的敏感性, 并加速了冠心病的进展^[9]。

目前关于uc004coz.1的研究较少, 已知与心脏重构相关的lncRNA uc004cos.4、uc004coz.1、uc004cov.4、uc011mfi.2、uc022bqw.1、uc022bqs.1、uc022bqu.1与冠心病相关临床参数有关^[10]。本研究旨在初步探究uc004coz.1的生物学功能与序列信息, 分析uc004coz.1对EC增殖迁移水平的影响, 以期为后续CAD相关研究提供理论基础。

1 对象和方法

1.1 对象

收集2022年1月—2024年1月来自南京医科大学附属苏州医院的55例受试者(31例CAD患者和

24例对照组), 年龄40~85岁。CAD诊断标准为至少一段主要冠状动脉的血管造影证据, 包括左前分支、左旋支或右冠状动脉, 狭窄程度>50%^[11]。排除有严重原发疾病、急性感染、外伤、心肌梗死、脑梗死、癌症、酒精中毒和药物成瘾的患者。对照者来自体检指标正常的人群。本研究中经南京医科大学附属苏州医院伦理委员会批准(编号: KL901125)。所有参与者或其家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染

人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)购自江苏康为世纪生物科技股份技术有限公司。培养液含有10%胎牛血清(Gibco公司, 美国), 100 U/mL链霉素和100 U/mL青霉素, 培养环境为加湿的37℃含5% CO₂的细胞培养箱。磷酸盐缓冲液(PBS, HyClone公司, 美国)洗涤细胞, 胰酶Trypsin-EDTA Solution(Sigma公司, 美国)消化细胞。转染前24 h, 在24孔板或6孔板中以每孔约50%的密度接种HUVEC, 用100 nmol/L si-NC及si-uc004coz.1转染细胞。转染24 h后使用TRIzol(Ambion公司, 美国)提取细胞RNA并反转录为cDNA, 进行RT-qPCR实验检测uc004coz.1表达水平, 转染48 h后收集细胞进行Western blot实验。siRNA序列如下, si-uc004coz.1: 5'-CCACTAGGATACCAACAAA-3', siNC: 5'-GGCTCTAGAAAAGCCTATGC-3', 由广州锐博生物科技有限公司合成。

1.2.2 血浆收集、RNA分离和RT-qPCR

采用EDTA真空抗凝采血管采集每位参与者的血样(4~6 mL), 1 600 g离心10 min后收集血浆, 去除碎片。用TRIzol从血浆中提取总RNA, 用2 μL 5×PrimeScript™ RT Master Mix(RR036A, TaKaRa公司, 日本)将500 ng RNA逆转录为cDNA, 用无RNA酶的H₂O调节反应体系至10 μL。采用TB Green® Premix Ex Taq™ II(TaKaRa公司, 日本)进行荧光定量实时聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-qPCR)。以β-肌动蛋白(β-actin)为内参。采用LightCycler®480 Instrument II实时荧光定

量PCR检测系统(Roche Diagnostics公司,瑞士)检测基因表达量。PCR参数为:95℃,30s;95℃5s,60℃20s,40次循环;65℃15s。uc004coz.1上游引物:5'-TCAACTGCAACTCCAAAGCC-3',下游引物:5'-GGGGACGAGAAGGGATTTGA-3'; β -actin上游引物:5'-CACGGTCAGGATCTTCATGAGGTAGT-3',下游引物:5'-AGAGCTACGAGCTGCCTGACGGCATC-G-3';引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成。所有实验重复3次。归一化内参水平后,用公式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 分析相对表达数据^[12]。

1.2.3 荧光原位杂交技术(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)检测基因的细胞定位

采用Ribo™荧光原位杂交试剂盒(广州锐博生物科技有限公司)进行FISH检测。HUVEC在底部有圆形爬片的24孔板中培养至密度达60%~70%,PBS洗涤后在室温下用4%多聚甲醛固定10min。每孔加入预冷的渗透液1mL,在4℃下孵育5min;PBS洗涤后,每孔加预杂交液200 μ L,37℃孵育30min;每孔加探针杂交液100 μ L,37℃黑暗孵育过夜;然后用枸橼酸钠和PBS洗涤细胞,加入DAPI染色,室温孵育10min;最后使用荧光共聚焦显微镜采集图像。

1.2.4 CCK-8检测细胞增殖

使用CCK-8试剂盒(Dojindo Laboratories公司,日本)检测细胞增殖。100nmol/L siRNA转染HUVEC 12~24h后,在96孔板接种1000个/孔HUVEC(100 μ L细胞悬液);然后将培养板在培养箱中预培养约3~4h,直到细胞附着在孔上;细胞继续培养0、24、48、72h后,分别加入10 μ L/孔CCK-8溶液,在37℃培养箱中培养2~4h;使用酶标仪测定450nm处的吸光度。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞周期

HUVEC在6孔板中转染48h后,用胰酶消化贴壁细胞(约 5×10^4 个),并用PBS洗涤;然后用预冷70%乙醇在-20℃下固定细胞24h以上;最后,使用细胞周期和凋亡分析试剂盒(上海碧云天),加入10 μ L RNase A和25 μ L丙啉在37℃下处理细胞30min;再次用冷PBS洗涤细胞,使用流式细胞仪(BD FAC-SCanto™ II公司,美国)在488nm处检测红色荧光。

1.2.6 5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷(5-ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)检测细胞增殖

采用Cell-Light EdU Apollo567体外流式细胞术试剂盒(广州锐博生物科技有限公司)进行EdU实验。将HUVEC以40%~60%的密度接种于含有细胞爬片的24孔板中孵育过夜。100nmol/L siRNA转染

48h后,用PBS洗涤细胞,4%多聚甲醛固定30min,然后用0.5% Triton X-100/PBS溶液处理10min。根据说明书,用Apollo在黑暗中孵育30min,然后用Hoechst染色30min,用荧光共聚焦显微镜(蔡司公司,德国)采集图像。

1.2.7 Transwell细胞迁移实验

实验采用24孔8.0 μ m孔径的小室(康宁公司,美国)。100nmol/L siRNA转染细胞24h后,在上室接种含 4×10^4 个细胞的200 μ L无血清培养基,下室加入600~800 μ L含10%胎牛血清的培养基;37℃孵育24h后用棉签轻轻去除膜上表面的细胞,用4%多聚甲醛固定穿膜细胞30min,室温下用800 μ L结晶紫溶液染色15~30min,最后用倒置荧光显微镜拍照。

1.2.8 Western blot实验检测蛋白表达

6孔板中HUVEC用100nmol/L siRNA转染48h后,用添加蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液裂解细胞提取蛋白质。取20~40 μ g蛋白使用SDS-聚丙烯酰胺凝胶(上海雅酶生物)和电泳仪(伯乐公司,美国)进行分离后,将蛋白转移到0.2 μ m PVDF膜上。然后,用5%脱脂牛奶封闭,与兔抗Cyclin B1(1:1000)、Cyclin D1(1:1000)、Cyclin E1(1:1000, Cell Signaling公司,美国)以及GAPDH(1:5000,武汉Proteintech公司)抗体在4℃孵育过夜。二抗用5%脱脂牛奶稀释,室温孵育1h。用TBST洗涤缓冲液洗涤3次,每次10min,使用ECL液(上海天能)曝光,用自动化学发光图像分析仪检测蛋白的表达水平,使用Image J软件对条带进行灰度分析。

1.2.9 RACE克隆uc004coz.1片段全长

提取HUVEC的RNA,反转录为cDNA,PCR扩增目的基因表达。接下来进行3'-RACE,对RNA进行加尾,反转录为cDNA,进行3'-RACE第1轮PCR扩增,回收PCR产物为模板,进行第2轮PCR,切胶回收目的条带进行TA克隆,挑取阳性克隆进行测序,确定3'末端序列。随后进行5'-RACE,以提取的细胞RNA为模板,反转录为cDNA,进行5'-RACE第1轮PCR,并以PCR产物为模板进行第2轮PCR。切胶回收目的产物进行TA克隆,挑取克隆进行菌液PCR选取阳性克隆进行测序,确定5'末端序列。最后对3'末端序列与5'末端序列与Ensembl数据库中RNA序列和基因组进行比对,得到对应的染色体及位置。引物及相关产品由广州锐博生物科技有限公司设计合成。

1.3 统计学方法

使用GraphPad Prism7软件进行统计分析,

数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

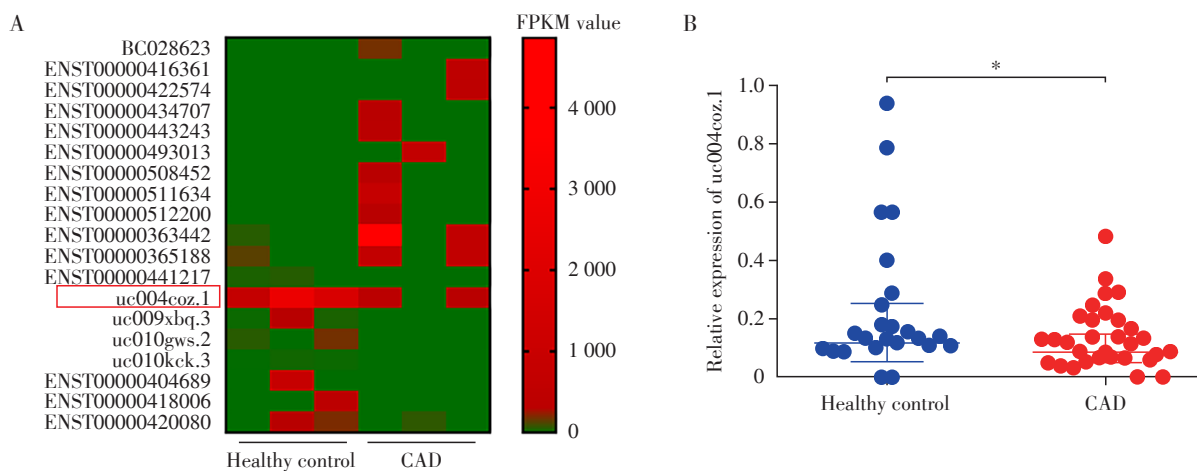
2.1 lncRNA uc004coz.1 的筛选与临床样本检测

根据测序结果发现 uc004coz.1 在冠心病患者中

较对照组表达下调(图1A), 并且在临床血浆样本中也验证了 uc004coz.1 在冠心病患者中表达下调($P < 0.05$, 图1B)。

2.2 uc004coz.1 细胞定位

使用 FISH 探针技术检测发现 uc004coz.1 (红色 Cy3 着色部分) 主要定位于细胞核, 少量位于细胞质(图2)。



A: Heat map analysis of lncRNA sequencing results. FPKM: fragments per kilo · base of transcript per million fragments mapped. B: Verify the expression level of uc004coz.1 in the control group ($n=24$) and the CAD group ($n=31$) of clinical samples. * $P < 0.05$.

图1 uc004coz.1 在对照组与冠心病组中表达水平比较

Figure 1 Comparison of uc004coz.1 expression level between the healthy control group and the CAD group

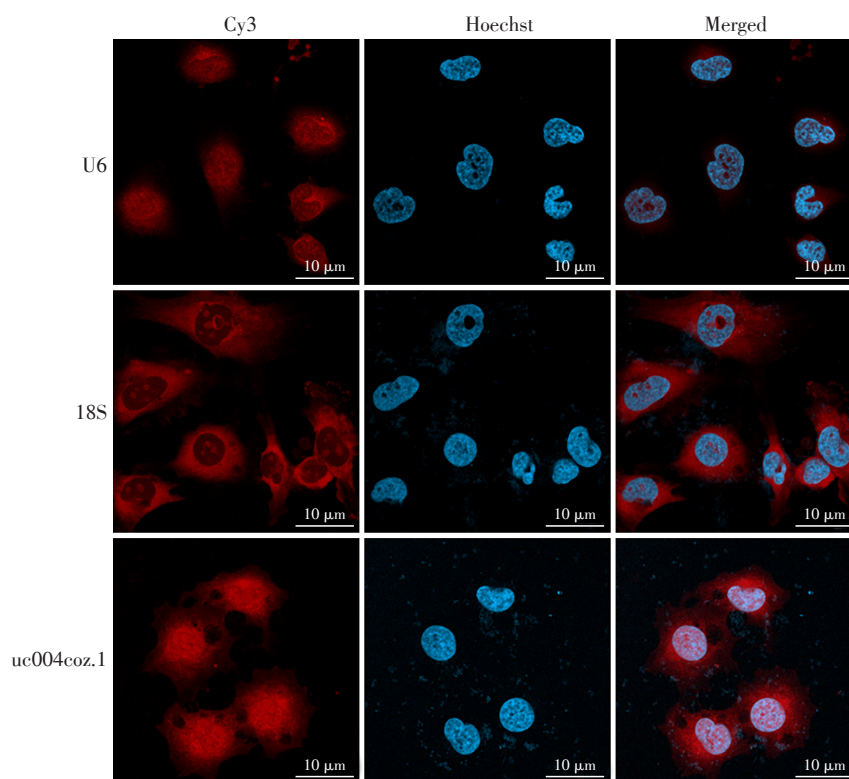


图2 FISH 实验检测 uc004coz.1 细胞定位(油镜, $\times 630$)

Figure 2 Cell localization of uc004coz.1 was detected by FISH assay (oil, $\times 630$)

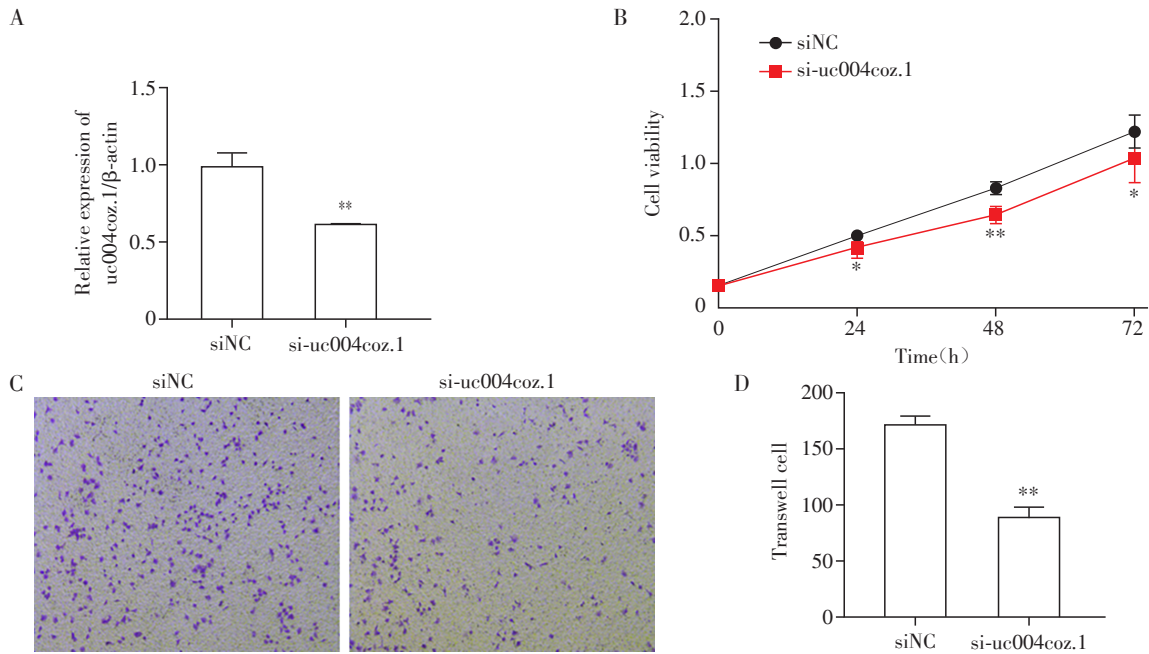
2.3 uc004coz.1影响细胞增殖迁移

si-uc004coz.1 明显减弱 HUVEC 内 uc004coz.1 的表达 ($P=0.001$, 图 3A)。CCK-8 实验显示敲减 HUVEC 内 uc004coz.1 后, 24、48、72 h HUVEC 增殖能力较对照组下降 ($P=0.01$, $P < 0.01$, $P=0.02$, 图 3B)。Transwell 实验也显示 uc004coz.1 敲减后细胞

的迁移能力较对照组明显减弱 ($P < 0.01$, 图 3C、D)。

2.4 uc004coz.1影响细胞增殖水平

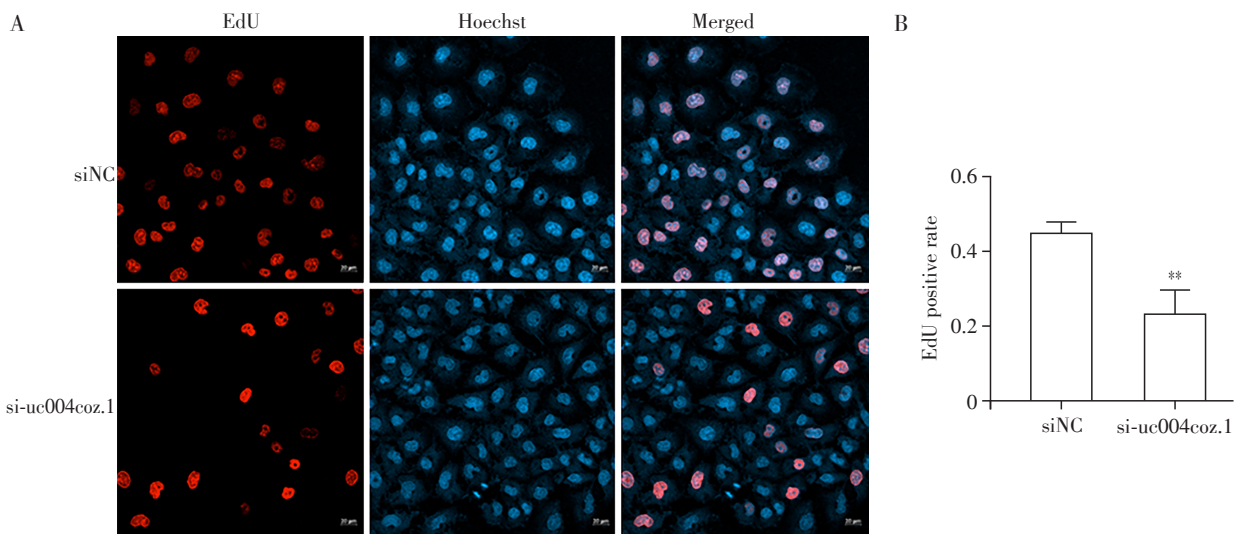
EdU 实验结果显示 uc004coz.1 敲减后细胞 EdU 阳性率明显降低, 说明 uc004coz.1 下调能够明显抑制细胞的增殖 ($P < 0.01$, 图 4A、B)。



A: The knock down efficiency of uc004coz.1; siNC represented the negative control group, and si-uc004coz.1 represented the siRNA knockdown group. B: The growth trend of cells in siNC and si-uc004coz.1 was detected by CCK-8 at 0, 24, 48, and 72 h. C: The cell migration levels of siNC and si-uc004coz.1 were detected by transwell assay ($\times 100$). D: Statistical results of the number of migrating cells. Compared to the siNC group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图3 uc004coz.1敲减效率与细胞增殖迁移检测

Figure 3 Detection of uc004coz.1 knock-down efficiency and cell proliferation and migration



A: The cell proliferation was detected by EdU ($\times 200$). Red represents proliferation-positive nuclear staining and blue represents nuclear hoechst staining. B: Statistical results of the percentage of proliferative positive cells. Compared to the siNC group, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图4 EdU实验检测细胞增殖水平

Figure 4 Cell proliferation was detected by EdU

2.5 uc004coz.1 影响细胞周期

细胞周期检测结果显示, uc004coz.1 敲减后 S 期和 G2 期细胞较对照组明显减少 (P 均 < 0.01), 停滞 G0/G1 期细胞明显增多 ($P < 0.01$, 图 5), 说明敲减 uc004coz.1 能够抑制细胞的增殖。

2.6 uc004coz.1 影响细胞周期蛋白表达

Western blot 实验显示 uc004coz.1 敲减后 Cyclin D1、Cyclin E1 表达量较 NC 组明显下调 (P 均 < 0.01), Cyclin B1 表达没有明显变化 ($P=0.08$)。说明 uc004coz.1 能够影响细胞周期相关蛋白 Cyclin D1、Cyclin E1 的表达 (图 6)。

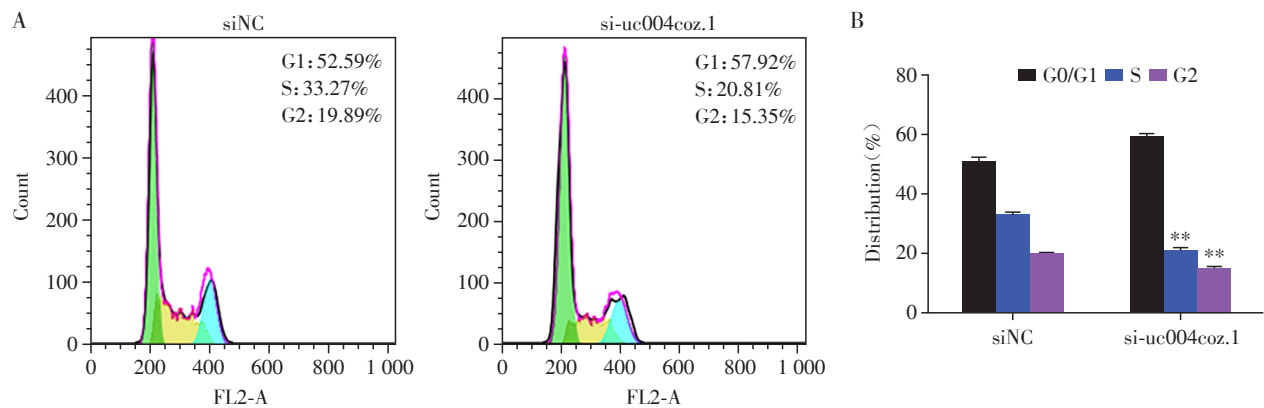
2.7 目的基因扩增及 3'-RACE 结果

以样品提取的总 RNA 作为模板, 反转录后进行 PCR 扩增 uc004coz.1, 琼脂糖凝胶电泳结果如图 7A, 基因 uc004coz.1 表达丰度较高, 尝试进行 3'-RACE 及 5'-RACE。以样品提取的总 RNA 进行加尾, 以加尾产物为模板进行 cDNA 反转录, 进行 3'-RACE 第 1 轮 PCR。以第 1 轮 PCR 产物为模板进行第 2 轮 PCR, 琼脂糖凝胶电泳结果如图 7B 所示。目的条带

回收后进行 TA 克隆, 挑取 10 个菌落进行菌液 PCR, 琼脂糖凝胶电泳结果如图 7C 所示, 挑取 3、5、7、10 号进行测序, 测序结果: 5'-CACATTACAGTCAAATCCCTTCTCGTCCCCATGGATGACCCCCCTCAGATAGGGGTCCCTTGACCACCATCCTCCGTGAAATCAATATCCCGCACAAGAGTGCTACTCTCCTCGCTCCGGGCCATAACACTTGGGGGTAGCTAAAGTGAAGTGTATCCGACATCTGGTTCCTACTTCAGGGTCATAAAGCCTAAATAGCCCACACGTTCCCTTAAATAAGACATCACCATG-3'。

2.8 5'-RACE 结果

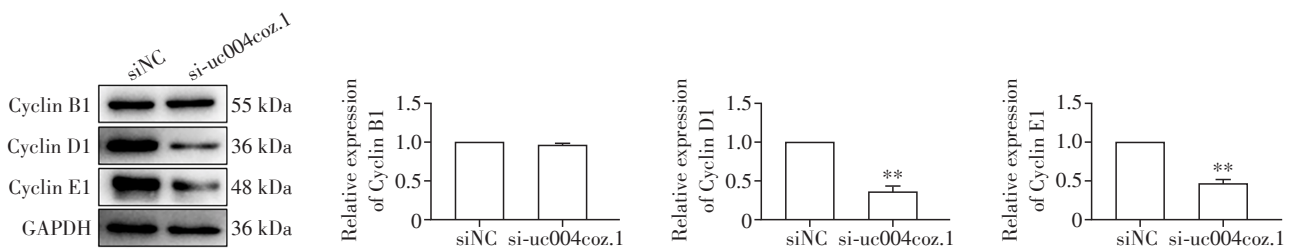
以样品提取的总 RNA 作为模板, 加入 1 μ L 5'-RACE adaptor 反转录为 cDNA, 进行 5'-RACE 第 1 轮 PCR, 以第 1 轮 PCR 产物为模板, 以反向引物进行第 2 轮 PCR 扩增, 琼脂糖凝胶电泳结果如图 8A 所示。对目的条带进行切胶回收, 进行 TA 克隆, 挑取 10 个菌落进行菌液 PCR, 琼脂糖凝胶电泳结果如图 8B 所示, 挑取 1、4、6、10 号进行测序。测序结果: 5'-AAGATTCTAATTTAACTATTCTCTGTTCTTTCATGGG-



A: The cell cycle graphs of siNC and si-uc004coz.1 were detected by flow cytometry. B: Statistical results of cell number in each cell cycle. Compared to the siNC group, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图5 流式细胞仪检测细胞周期

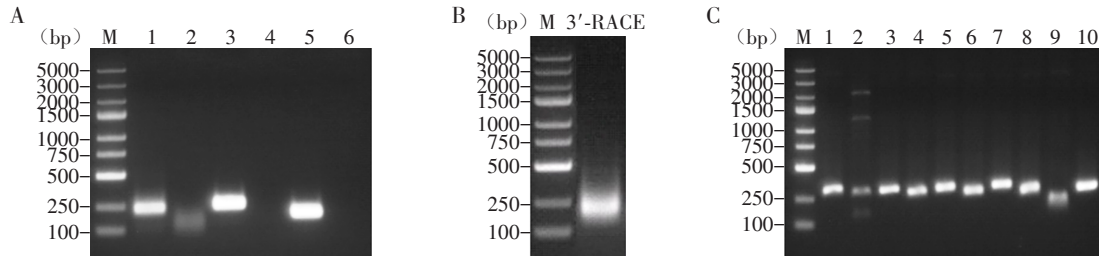
Figure 5 Cell cycle was measured by flow cytometry



The expressions of Cyclin B1, Cyclin D1, and Cyclin E1 were detected by Western blot, GAPDH representing the internal reference. The gray scale of the protein strip was analyzed by Image J and GraphPad Prism 7 statistical software. Compared to the siNC group, ** $P < 0.01$ ($n=3$).

图6 Western blot 检测蛋白表达

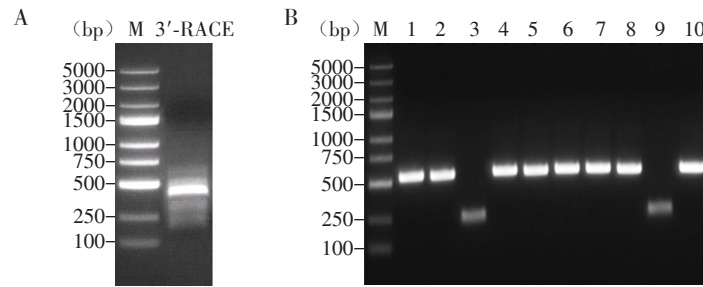
Figure 6 Protein expression was detected by Western blot



A: The uc004coz.1 was detected by agarose gel electrophoresis after PCR (the molecular weight of uc004coz.1 was 231 bp). B: The results of the second round PCR of 3'-RACE were determined by agarose gel electrophoresis. C: The PCR results of 3'-RACE clone were determined by agarose gel electrophoresis. M: marker.

图7 琼脂糖凝胶电泳检测细胞中目的基因uc004coz.1表达以及3'-RACE结果

Figure 7 Expression of uc004coz.1 and results of 3'-RACE were detected by agar-gel electrophoresis



A: The results of the second round PCR of 5'-RACE were determined by agarose gel electrophoresis. B: PCR results of 5'-RACE clone were determined by agarose gel electrophoresis. M: marker.

图8 琼脂糖凝胶电泳检测5'-RACE结果

Figure 8 Results of 5'-RACE detected by agarose gel electrophoresis

GAAGCAGATTTGGGTACCACCCAAGTATTGACTC-
ACCCATCAACAACCGCTATGTATTTTCGTACATTAC-
TGCCAGCCACCATGAATATTGTACGGTACCATAA-
ATACTTGACCACCTGTAGTACATAAAAACCCAAT-
CCACATCAAACCCCTCCCCATGCTTACAAGCAA-
GTACAGCAATCAACCCTCAACTATCACACATCAA-
CTGCAACTCCAAAGCCACCCCTCACCCACTAGGA-
TACCAACAAACCTACCCACCCCTTAACAGTACATA-
GTACATAAAGCCATTTACCGTACATAGCACATTA-
CAGTCAAATCCCTTCTCGTCCCCATGGATGACCCC-
CCTCAGATAGGGGTC-3',在16 093、16 172、16 304
位置上,数据库收录为T,实际测序结果为C。

2.9 RACE 结果分析

目的基因表达的结果证明 uc004coz.1 这对目的基因丰度较高,对于 3'-RACE 及 5'-RACE,在 PCR 反应中均扩增到明显条带。数据库 RNA 序列和基因组进行比对,得到对应的染色体为 *Homo sapiens mitochondrion, complete genome* (序列编号: NC_012920.1)。此染色体中 uc004coz.1 在数据库的位置为 15 998~16 569。5'-RACE 测序结果显示 5' 末端位置为 16 033。3'-RACE 测序结果显示 3'-RACE

末端位置为 16 417。

3 讨论

随着人口老龄化的加剧,心血管疾病成为危害人类健康的主要疾病之一^[13]。CAD 又称缺血性心脏病,是一种常见的心血管疾病。在过去的几十年里,CAD 一直是世界范围内发病率和死亡率较高的疾病之一^[14]。血管内皮功能障碍、炎症、高龄、男性、家族史、高血脂、高血压、吸烟、肥胖、痛风、缺乏运动等因素是动脉粥样硬化发生的危险因素^[15]。

lncRNA 是长度>200个核苷酸且无蛋白质编码功能的 RNA,比编码 RNA 保守性更低,在结构特征和序列组成上与编码 RNA 3'非翻译区(3' untranslated regions, UTR)相似,具有时空特异性。lncRNA 通常位于细胞核和细胞质中,在 RNA 聚合酶的作用下,5'帽和 3'poly A 尾经过转录后修饰,最终形成成熟分子。进一步研究发现,lncRNA 并不是没有生理活性的“遗传噪音”^[16-17]。有研究发现并证实了 lncRNA 在 mRNA 转录调控中的作用^[18]。lncRNA 通常根据其相对于蛋白质编码基因的转录位点进行分类,有增强子 lncRNA、启动子 lncRNA、反义 lncRNA

(从蛋白质编码基因中以反义方向转录)、基因间 lncRNA, 以及由内含子和/或外显子被切除和定位产生的环状 lncRNA^[19]。总的来说, lncRNA 初级序列在物种间的保守性不如 mRNA 序列, 它们的二级结构通常与其功能相关, 并且它们的表达具有高度的细胞类型特异性^[20]。

lncRNA 通过调节 EC 的增殖、迁移、黏附、血管生成、炎症、凋亡、自噬和焦亡在 CAD 的发病过程中发挥重要作用^[21]。越来越多的研究表明, lncRNA 作为基因表达的表观遗传调控因子, 在表观遗传学、基因转录、翻译等方面通过不同的靶点和途径参与 CAD 的发生^[22]。lncRNA 可以通过多种不同的分子机制调控细胞生物学过程, 在心血管系统中的丰度表明其在心血管生理和病理中的重要意义。在心血管疾病中, lncRNA 影响动脉粥样硬化斑块中相关基因的表达水平, 这些基因与内皮功能障碍、平滑肌细胞增殖、巨噬细胞功能障碍、脂质代谢异常、细胞自噬等密切相关, 参与调节 CAD 的发生发展^[4]。lncRNA H19 是一种高度保守的 lncRNA, 能够在心脏和血管组织中富集, 对维持心血管系统稳态具有重要作用^[23]。lncRNA SNHG16 通过 ceRNA/microRNA 海绵增强血管平滑肌细胞的增殖和迁移, 促进炎症反应^[24-25]。

本研究发现 lncRNA uc004coz.1 在 CAD 患者血浆中下调表达, 并通过临床样本检测也验证了 uc004coz.1 在 CAD 患者中的下调表达。FISH 实验显示 uc004coz.1 主要定位于细胞核, 少量定位于细胞质, 进一步对 uc004coz.1 进行 siRNA 敲减研究其功能, CCK-8、Transwell、EdU 及细胞周期实验结果显示 uc004coz.1 敲减后细胞增殖与迁移水平较对照组明显降低, 同时 uc004coz.1 敲减会导致细胞周期相关蛋白 Cyclin D1 与 Cyclin E1 表达下调, 说明 uc004coz.1 的下调表达能够抑制内皮细胞的增殖与迁移。最后对 uc004coz.1 进行 RACE 实验, 通过 3'-RACE 与 5'-RACE 及测序, 并与数据库 RNA 序列和基因组进行比对, 得到对应的染色体为 *Homo sapiens* mitochondrion, complete genome (序列编号: NC_012920.1)。此染色体中 uc004coz.1 在数据库的位置为 15 998~16 569, 5'-RACE 测序结果显示 5' 末端位置为 16 033, 3'-RACE 测序结果显示 3'-RACE 末端位置为 16 417。

目前关于 lncRNA uc004coz.1 与心血管相关的研究报道还较少, 深入研究可能会成为 CAD 疾病筛查与诊疗的一个新的靶点, 但后续仍需要大量的实

验证实 uc004coz.1 与冠心病发生发展的相关性分子机制。

利益冲突声明:

所有作者声明无利益冲突。

Conflict of Interests:

All authors declared no conflict of interests.

作者贡献声明:

李平负责实验的操作、数据分析与文章书写; 王峰参与实验数据分析及论文审核; 李渊参与实验的设计、项目管理、资金获取以及临床样本的审核与采集。

Author's Contributions:

LI Ping was responsible for experiment operation, data analysis and article writing; WANG Feng participated in experimental data analysis and paper review; LI Yuan participated in the study design, project management, fund acquisition, the paper review, and the collection of clinical samples.

[参考文献]

- [1] 尹亮, 刘德敏, 谷国强. 长链非编码 RNA 与冠心病相关性研究进展[J]. 临床荟萃, 2021, 36(5): 462-466
YIN L, LIU D M, GU G Q. Research progress on the correlation between long non-coding RNA and coronary heart disease[J]. Clinical Review, 2021, 36(5): 462-466
- [2] 邹先明. 血清 lncRNA ANRIL 和 KCNQ1OT1 与冠心病相关性研究[D]. 遵义: 遵义医科大学, 2020
ZOU X M. Correlation between serum lncRNA ANRIL and KCNQ1OT1 and coronary heart disease[D]. Zunyi: Zunyi Medical University, 2020
- [3] 董星明, 张锦. 长链非编码 RNA GAS5 与冠心病相关病变的研究进展[J]. 医学综述, 2021, 27(10): 1914-1919
DONG X M, ZHANG J. Research progress of long non-coding RNA GAS5 and coronary heart disease related diseases[J]. Medical Review, 2021, 27(10): 1914-1919
- [4] MA Y, HE S Q, XIE Q, et al. LncRNA: an important regulator of atherosclerosis[J]. Curr Med Chem, 2023, 30(38): 4340-4354
- [5] GONG D, ZHAO Z W, ZHANG Q, et al. The long noncoding RNA metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript-1 regulates CCDC80 expression by targeting miR-141-3p/miR-200a-3p in vascular smooth muscle cells[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2020, 75(4): 336-343
- [6] GONG D, ZHANG Q, CHEN L Y, et al. Coiled-coil domain-containing 80 accelerates atherosclerosis development through decreasing lipoprotein lipase expression via ERK1/2 phosphorylation and TET2 expression[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 843: 177-189
- [7] LI P, RUAN X B, YANG L, et al. A liver-enriched long

- non-coding RNA, lncLSTR, regulates systemic lipid metabolism in mice[J]. *Cell Metab*, 2015, 21(3):455-467
- [8] LI Y Q, SUN T, SHEN S X, et al. LncRNA DYNLRB2-2 inhibits THP-1 macrophage foam cell formation by enhancing autophagy[J]. *Biol Chem*, 2019, 400(8): 1047-1057
- [9] SALLAM T, JONES M, THOMAS B J, et al. Transcriptional regulation of macrophage cholesterol efflux and atherogenesis by a long noncoding RNA [J]. *Nat Med*, 2018, 24(3):304-312
- [10] OUYANG S, ZHOU Z X, LIU H T, et al. LncRNA-mediated modulation of endothelial cells: novel progress in the pathogenesis of coronary atherosclerotic disease [J]. *Curr Med Chem*, 2024, 31(10): 1251-1264
- [11] KONDOLEON N P, LAYOUN H, SPILIAS N, et al. Effectiveness of pre-TAVR CTA as a screening tool for significant CAD before TAVR [J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2023, 16(16): 1990-2000
- [12] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408
- [13] MALAKAR A K, CHOUDHURY D, HALDER B, et al. A review on coronary artery disease, its risk factors, and therapeutics [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 16812-16823
- [14] SU Z H, ZOU Z Y, HAY S I, et al. Global, regional, and national time trends in mortality for congenital heart disease, 1990-2019: an age-period-cohort analysis for the Global Burden of Disease 2019 study [J]. *EClinicalMedicine*, 2022, 43: 101249
- [15] DENG K, GUPTA D K, SHU X O, et al. Circulating metabolite profiles and risk of coronary heart disease among racially and geographically diverse populations [J]. *Circ Genom Precis Med*, 2024, 17(4): e004437
- [16] TROTMAN J B, BRACEROS K C A, CHERNEY R E, et al. The control of polycomb repressive complexes by long noncoding RNAs [J]. *Wires RNA*, 2021, 12(6): e1657
- [17] 李 鼎,王大新,梁景岩. 长链非编码RNA在心血管疾病中的作用及机制[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2020, 49(6): 777-783
- LI D, WANG D X, LIANG J Y. The role and mechanism of long non-coding RNA in cardiovascular diseases [J]. *Journal of Huazhong University of Science and Technology (Medical Edition)*, 2020, 49(6): 777-783
- [18] JOHNSON P, ZIEGENHAIN C, HARTMANIS L, et al. Transcriptional kinetics and molecular functions of long noncoding RNAs [J]. *Nat Genet*, 2022, 54(3): 306-317
- [19] WANG W L, MIN L, QIU X Y, et al. Biological function of long non-coding RNA (lncRNA) Xist [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 645647
- [20] HERMAN A B, TSITSIPATIS D, GOROSPE M. Integrated lncRNA function upon genomic and epigenomic regulation [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(12): 2252-2266
- [21] KITOW J, DERDA A A, BEERMANN J, et al. Mitochondrial long noncoding RNAs as blood based biomarkers for cardiac remodeling in patients with hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 311(3): H707-H712
- [22] ALI T, GROTE P. Beyond the RNA-dependent function of lncRNA genes [J]. *Elife*, 2020, 9: e60583
- [23] BUSSCHER D, BOON R A, JUNI R P. The multifaceted actions of the lncRNA H19 in cardiovascular biology and diseases [J]. *Clin Sci*, 2022, 136(15): 1157-1178
- [24] WANG Y Y, YANG Y, ZHANG T, et al. LncRNA SNHG16 accelerates atherosclerosis and promotes ox-LDL-induced VSMC growth via the miRNA-22-3p/HMGB2 axis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 915: 174601
- [25] AN J H, CHEN Z Y, MA Q L, et al. LncRNA SNHG16 promoted proliferation and inflammatory response of macrophages through miR-17-5p/NF- κ B signaling pathway in patients with atherosclerosis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(19): 8665-8677

[收稿日期] 2024-08-01

(本文编辑:蒋 莉)