

lncRNA在肺动脉高压血管平滑肌细胞中的作用

凌振航^{1*}, 范园^{1*}, 贾成真¹, 肖娟¹, 刘丙勋², 范晓航^{1#}

¹湖北文理学院基础医学院, 湖北 襄阳

²华中科技大学同济医学院病理生理学系, 湖北 武汉

收稿日期: 2023年9月28日; 录用日期: 2023年11月10日; 发布日期: 2023年11月17日

摘要

肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是一种病因复杂的进行性疾病, 目前仍无法治愈, 其病理特征主要是肺血管明显重构、肺动脉压力升高及右心室肥厚。长链非编码RNA (lncRNA)是一类长度超过200 nt不具有编码蛋白能力的RNA。近年来, 越来越多的研究发现lncRNA在PH发生机制中发挥重要作用。抗凋亡、过度增殖和迁移是肺动脉平滑肌细胞(PASMCs)失调导致血管重构的主要机制, 而血管重构是PH发病机制的关键因素。本文主要概述在PH中调节PASMCs功能的lncRNA及其作用机制。

关键词

肺动脉高压, 长链非编码RNA, 肺动脉平滑肌细胞

The Effect of lncRNA in Vascular Smooth Muscle Cells of Pulmonary Hypertension

Zhenhang Ling^{1*}, Yuan Fan^{1*}, Chengzhen Jia¹, Juan Xiao¹, Bingxun Liu², Xiaohang Fan^{1#}

¹School of Basic Medicine, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang Hubei

²Department of Pathophysiology, School of Basic Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology (HUST), Wuhan Hubei

Received: Sep. 28th, 2023; accepted: Nov. 10th, 2023; published: Nov. 17th, 2023

Abstract

Pulmonary hypertension (PH) is a progressive disease with complex etiology, which is still incur-

*共同第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 凌振航, 范园, 贾成真, 肖娟, 刘丙勋, 范晓航. lncRNA 在肺动脉高压血管平滑肌细胞中的作用[J]. 生物医学, 2024, 14(1): 1-20. DOI: 10.12677/hjbm.2024.141001

able, and its pathological characteristics are mainly significant pulmonary vascular remodeling, elevated pulmonary artery pressure, and right ventricular hypertrophy. Long non-coding RNA (lncRNA) is a class of RNA longer than 200 nt that cannot encode proteins. Recently, more and more studies have found that lncRNA plays an important role in the pathogenesis of PH. Pulmonary vascular remodeling caused by excessive proliferation, migration and anti-apoptosis of pulmonary artery smooth muscle cells (PASMCs) is a key in the pathogenesis of PH. This paper mainly reviewed the molecular mechanism of lncRNA regulating PASMCs function and participating in the development of PH.

Keywords

Pulmonary Hypertension, Long Non-Coding RNA, Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是以肺血管明显重构和肺血管阻力进行性增高为特征的综合征, 可导致右心室(right ventricle, RV)肥厚, 患者往往因右心室功能衰竭而死亡, 预后较差[1]。因患者发病的临床症状不典型、病因复杂和死亡率高等特点, PH又被称为“心血管系统的恶性肿瘤”。在 2018 年召开的第六届世界肺动脉高压研讨会上, 提议将 PH 定义修订为静息时平均肺动脉压(mean pulmonary pressure, mPAP) > 20 mmHg [1], 并按照发病原因将其分为动脉性肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)、左心疾病相关性 PH、肺部疾病和/或低氧相关性 PH、肺动脉阻塞所致 PH 和不明原因导致的 PH 这 5 类。随着 PH 的研究不断进展, 虽然发病机制尚不清楚, 但有关 PH 的临床处理思路已经从先前的延缓终末期疾病死亡率演变为早期诊断和靶向治疗, 患者 5 年生存率从 1991 年的 34% 提高到 2015 年的 60% 以上[2]。目前, 美国食品和药物管理局(FDA)批准的 PH 靶向治疗药物包括磷酸二酯酶-5 抑制剂、前列环素类似物和内皮素受体拮抗剂, 分别靶向一氧化氮途径、前列环素途径和内皮素途径进行治疗[1]。通过这些特异性治疗, 虽然靶向药物可改善患者症状, 但从长远来看, 其长期疗效及预后仍较差, 识别和抑制潜在的分子机制对于逆转肺血管重构以改善患者预后至关重要。有研究表明长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 通过参与肺血管重构促进肺动脉高压的发生与发展[3]。本文将结合 lncRNA 在肺动脉高压领域的研究现状, 综述其作用于 PASMCs 参与肺动脉高压发生的机制, 以期为临床 PH 治疗提供新的研究思路和治疗靶点。

2. 长链非编码 RNA 概述

lncRNA 首次于 2002 年被 Okazaki 等人发现[4], 是一类长度超过 200 nt 的 RNA, 是 RNA 聚合酶 II 转录的副产物, 由于缺乏完整的开放阅读框而不具有编码蛋白能力, 曾被认为是“转录噪音”, 不具有生物学功能[5]。绝大多数 lncRNA 位于细胞核, 它们对应的 DNA 区域有的与蛋白编码基因重叠, 有的位于基因之间或者内含子中, 因此, 根据其在蛋白质编码区附近的基因组位置, lncRNA 分为五类: 正义链 lncRNA、反义链 lncRNA、内含子 lncRNA、基因间 lncRNA 和双向 lncRNA [6]。lncRNA 的功能主要有吸附 miRNA、顺式或反式调控转录、结合蛋白质、结合 RNA、结合核糖体等[7]。虽然 lncRNA 没有编码任何蛋白质, 但它们的表达在不同组织和发育阶段依然具有特异性[8]。大部分 lncRNA 保守性较低,

但细胞特异性和组织特异性高[8]。lncRNA 可通过充当诱饵、信号分子和支架分子来调控基因表达的转录和转录后调控,也可作为内源性竞争 RNA (ceRNA)从其 mRNA 靶基因上吸走 miRNAs 来间接调节基因表达。目前研究显示 lncRNA 具有重要的生物学意义,在一系列病理生理过程中发挥着重要作用,例如细胞活动调节(如增殖、迁移、凋亡、血管生成、代谢)、炎症和免疫应答以及血管生成[9] [10] [11] [12] [13]。在多种体液中(如尿液、血液)可检测到稳定存在的 lncRNA,或许可以作为疾病诊断的潜在标志物[14]。

越来越多的研究表明 lncRNAs 在血管生物学稳态维持方面起重要作用,在肿瘤[15]、心血管疾病[16]、呼吸系统疾病[17]中有重大研究价值。已发现 lncRNA MALAT1 和 lncRNA MEG3 可促进 PSMCs 增殖和血管生成, lncRNA ANRIL 可调节血管平滑肌细胞的增殖和表型转换, lncRNA Cox2 促进白细胞激活, lncRNA GAS5 调节巨噬细胞极化等[16]。

3. 肺动脉高压发病机制新进展

肺动脉高压的病理特征主要是肺小动脉重构、肺动脉压力升高、右心室肥厚,其中最主要的表现是肺小动脉重构[18]。遗传因素以及外界环境因素如低氧、炎症、氧化应激、药物或毒物等可致肺动脉平滑肌细胞(pulmonary artery smooth muscle cells, PSMCs)过度增殖、肺动脉内皮细胞(pulmonary artery endothelial cells, PAECs)功能失调、血管外膜成纤维细胞异常增殖、血管外胶原沉积等改变,最终导致血管壁增厚、肺小动脉进行性重构、肺血管阻力增加[19]。目前肺动脉高压的研究主要涉及 G 蛋白耦联受体通路、离子通道、非编码 RNAs、生长因子受体、炎症介质等方向[20] [21]。

肺动脉高压的病理过程中有多种炎症细胞和细胞因子的参与。炎症细胞,如巨噬细胞、树突状细胞、T 和 B 淋巴细胞等参与了炎症介导的 PH 发生与发展[22]。在肺动脉高压患者和动物模型的肺血管周围不仅有大量炎性细胞的浸润,且外周血循环中细胞因子和炎症趋化因子显著增加,例如白介素-1 α (IL-1 α)、白介素-1 β (IL-1 β)、血小板衍生生长因子 β 多肽 b (platelet derived growth factors beta polypeptide b, PDGF-BB)、白介素 6 (IL-6)、血管内皮生长因子(VEGF)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)等[22] [23]。PDGF-BB 是一种促细胞分裂素,可以刺激 PSMCs 增殖[24] [25]。除炎症外,肾素-血管紧张素系统(RAAS)在肺动脉高压发生中也起着重要作用。肾素将血管紧张素原剪切成血管紧张素 I (Ang I),继而被血管紧张素转化酶(ACE)转变为血管紧张素 II (Ang II) [26]。Ang II 通过 Ang II 1 型受体(AT1R)途径促进 PSMCs 增殖、迁移、收缩,该途径称为 ACE-Ang II-AT1R 轴[27]。AT1R 拮抗剂氯沙坦可以有效改善野百合碱(MCT)诱导的肺血管重构,减轻右心负荷,阻止肺动脉高压发展[28]。但 AT1R 拮抗剂在临床的应用效果还有待进一步探索。

新生儿持续肺动脉高压是第一类肺动脉高压的一个亚类,其中由先天性膈疝(congenital diaphragmatic hernia, CHD)引起的持续性 PH 是该类患儿出生就死亡的重要原因,目前活产 CDH 婴儿的死亡率接近 25%~30% [29]。通过对先天性膈疝患者的基因组测序,与小鼠膈肌发育过程的基因进行相关分析,发现了越来越多的与先天性膈疝发病机制有关的候选基因[30],其中编码同源结构域的转录因子 Pbx 基因备受关注。McCulley 等人成功构建了靶向肺间质 Pbx1/2 敲除小鼠模型[31],并揭示了 Pbx 通过调控围产期和新生儿早期肺血管收缩和舒张平衡来参与新生儿持续性 PH 的发病机制[31]。然而运用内皮素受体拮抗剂或血管紧张素转换酶抑制(ACEI)均不能有效抑制 Pbx1/2 敲除小鼠出生后的肺动脉高压,而运用 Rho 激酶抑制剂 Y-27632 抑制肌球蛋白轻链磷酸化后可显著阻断 Pbx1/2 敲除小鼠出生后的肺动脉压力升高。上述结果表明,虽然出生后调节肺血管舒缩物质失衡是新生儿持续性肺动脉高压发病的重要机制,但简单地通过抑制剂等方法抑制缩血管物质并不能有效缓解,只有通过抑制平滑肌收缩的效应蛋白肌球蛋白轻链的功能才能对该类肺动脉高压起到一定的缓解。

4. lncRNA 与肺动脉高压

目前越来越多的研究表明 lncRNA 在 PH 中差异性表达, 参与肺动脉高压的发生。Han B 等人[3]发现 2511 个 lncRNAs 在特发性肺动脉高压(idiopathic pulmonary arterial hypertension, IPAH)病人外周血淋巴细胞中差异表达, 可能参与了淋巴细胞介导的 IPAH 的发生。Cao Y 等[32]分析 MCT 联合 LPS 急性诱导的大鼠急性右心衰心肌组织 lncRNA 芯片发现, 169 个差异表达的 lncRNAs 可能参与了血管生成和 TNF 信号通路等。

最近, 已有研究证明 lncRNA 与肺血管重构和肺动脉高压发病机制有关[33]。抗凋亡、过度增殖和迁移是肺动脉平滑肌细胞失调导致血管重构的主要机制, 而血管重构是肺动脉高压发病机制的关键决定因素。多种信号通路与 PSMCs 的失调有关, 如 TGF- β 信号通路、PDGF 信号通路、雌激素信号通路、MAPK 信号通路、PI3K/AKT/mTOR 信号通路、Wnt 信号通路、Notch 信号通路和 hedgehog 信号通路等[25] [34] [35] [36]。此外, 缺氧、凋亡通路、包括 miRNA 和 lncRNA 在内的非编码 RNA 也被报道为 PSMCs 功能障碍的关键角色, 它们通过调控 PSMCs 增殖、凋亡以及肺血管重构参与 PH 的发生[33]。2019 年 Wang D 等[37]报道 lncRNA MALAT1 可通过抑制 miR-124-3p.1 促进 KLF5 的表达, 进一步促 PSMCs 进入增殖期。PDGF-BB 和 TGF- β 刺激 PSMCs 后, lncRNA LnRPT 表达下调, 导致细胞周期蛋白 CCNA2 表达升高和 Notch 信号通路激活, PSMCs 增殖增加[38]。由此推测肺动脉平滑肌细胞的增殖失调将成为 PH 药物治疗的潜在靶点。参与调控 PSMCs 功能的相关 lncRNA 见表 1 和表 2。

4.1. 肺动脉高压 PSMCs 中双向调节的 lncRNA

4.1.1. lncRNA H19

lncRNA H19 (以下简称 H19)是最早发现的 lncRNA 之一, 位于人类基因组 11p15.5 染色体附近, 具有高度保守的二级结构[39]。H19 具有较为复杂的生物学功能, 不仅可作为分子海绵调节 miRNA, 还可与各种蛋白质相互作用调节基因表达, 而且是 miR-675 的主要前体[40]。以往的研究显示 H19 在肿瘤的转移和发展、缺氧、代谢、炎症及氧化应激中起至关重要的作用[40]。H19 可通过 miR-146a-5p/ANGPTL4 途径[41]、MAPK 和 NF- κ B 信号通路[42]等方式促进动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)的发展。H19 含有 miRNA let-7b 的结合位点, 可通过 let-7b 调控发育、癌症进展和细胞生长[43]。2018 年 Su H 等[44]研究显示 H19 在野百合碱(MCT)诱导的小鼠和大鼠 PH 模型的血清和肺组织中均过表达, 且在体外采用多种细胞因子刺激 PSMCs 表达 H19, 结果显示不同剂量的血小板衍生生长因子 β 多肽 b (PDGF-BB)刺激 PSMCs 时, H19 的表达最高, 呈剂量依赖性; H19 通过海绵化吸附 let-7b 增强血管紧张素 II 受体 1 型(AT1R)的表达水平, 从而促进 PSMCs 增殖, 促进肺动脉高压的发生。而采用 H19-/-mice 构建 MCT 诱导的 PH 模型中, 敲除 H19 可明显改善小鼠右心室收缩压和肺动脉重构[44]。而 PDGF 调控 H19 的具体机制尚不清楚。

然而, Wang 等人的一项研究结果却与之相反, MCT 诱导的 PH 大鼠的 H19、PDCD4 和 miR-675-3p 水平明显降低, 但 IGF1R 和 miR-200a 的表达较高[45]。miR-675-3p 可靶向 IGF1R, miR-200a 靶向 PDCD4, 采用褪黑素治疗可通过调节 H19/miR200a/PDCD4 和 H19/miR-675-3p/IGF1R 信号轴, 抑制 PSMCs 的增殖, 增强细胞凋亡。因此, H19 在肺血管重构中的作用不清楚, 尚存在争议。

Table 1. Up-regulated lncRNA in PSMCs of pulmonary hypertension

表 1. 肺动脉高压 PSMCs 中上调的 lncRNA

lncRNA	研究模型	使用的样本	重要研究发现	机制	参考文献
TYKRIL	IPAH 患者, hPSMCs 缺氧	PSMCs、周细胞	促进缺氧条件下 hPSMCs 增殖, 抑制凋亡, 促进肺血管重构	p53/PDGFR β	[60]

Continued

H19	小鼠及大鼠 MCT 致 PH 模型	血清、肺组织、PASMCs	PDGF-BB 刺激 PASMCs 时, H19 表达明显增高; 敲除 H19 可明显改善小鼠右心室收缩压和肺动脉重构	let-7b/AT1R	[44]
H19	IPAH 患者、CTD-PAH 患者和 大鼠 MCT 致 PH 模型	外周血浆、右心室组织	血浆 H19 水平较低的 IPAH 患者长期生存率较高; 下调 H19 可改善右心室重构和右心室功能	NA	[46]
MEG3	小鼠 HPH 模型和 IPAH 患者	PASMCs	下调 MEG3 可抑制缺氧诱导的小鼠 PH 发展, 过表达的 MEG3 过度激活细胞周期进程, 使 IGF1R 的表达增加, 促进 PASMCs 增殖	miR-328-3p/IGF1R	[51]
MALAT1	遗传性肺动脉高压患者	肺动脉组织和 PASMCs	增加细胞周期蛋白表达, 调节细胞周期, 促进 PASMCs 增殖和迁移	miR-124-3p.1/KLF5	[37]
MALAT1	小鼠 HPH 模型(持续缺氧 5 周)、PH 患者、hPASMCs	肺组织、PASMCs	靶向干扰 MALAT1 可抑制 PASMCs 的增殖和迁移	miR-503/TLR4	[53] [55]
TUG1	HPH 模型、PASMCs	PASMCs	刺激 PASMCs 增殖和迁移、抑制凋亡, 加重肺血管重构	miR-328-3p、miR-374c/Foxc1/Notch	[47] [57]
HOXA-AS3	hPASMCs、小鼠 HPH、MCT 致 PH 模型、PH 患者	肺组织和 PASMCs	调节 PASMCs 细胞周期, 促进细胞增殖, 抑制凋亡	miR-675-3p/PDE5A、Hoxa3	[48] [59]
UCA1	hPASMCs 缺氧	PASMCs	lncRNAs 测序发现, UCA1 在缺氧的 hPASMCs 中明显高表达, 促进 hPASMCs 增殖, 抑制细胞凋亡	ING5/hnRNP I	[63]
SMILR	大鼠 MCT 致 PH 模型、PH 患者、hPASMCs 缺氧	PASMCs	下调 SMILR 可靶向 miR-141 抑制缺氧的 PASMCs 增殖和迁移, 改善肺血管重构	miR-141/RhoA/ROCK	[64]
LincRNA-COX2	PH 患者	外周血、缺氧的 PASMCs	促进缺氧 PASMCs 增殖和迁移, 影响细胞周期 G ₂ /M 期	miR-let-7a/STAT3	[69]
Lnc-Ang362	PH 患者, SU-5416/hypoxia 大鼠 PH 模型	肺组织、缺氧的 PASMCs	促进 PASMCs 增殖, 减少细胞凋亡, 并调控其生物功能	miR-221 and miR-222/NFκB	[70] [72]
PAXIP1-AS1	大鼠 MCT-PH 模型	肺组织、缺氧的 PASMCs	促进缺氧诱导的 hPASMCs 细胞活力和迁移	ETS1/WIPF1/RhoA	[74]
AC068039.4	PASMCs 缺氧	PASMCs	敲除 AC068039.4 可减轻 PASMCs 的增殖和迁移, 抑制细胞进入 G ₀ /G ₁ 期, 调节细胞周期进程; 抑制肺血管重构	miR-26a-5p/TRPC6	[75]
LINC00963	PASMCs 缺氧和 C57 小鼠 HPH 模型	PASMCs	促进 PASMCs 活力、迁移; 沉默 LINC00963 可改善低氧性 PH	miR-328-3p/PFN1	[78]
PVT1	PASMCs 缺氧	PASMCs	缺氧可致 PVT1 上调, 调节细胞自噬, 从而加重 PASMCs 增殖	miR-186/Srf/Ctgf、miR-26b/Ctgf	[81]
NEAT1	PH 患者、hPASMCs	患者血清和 hPASMCs	敲低 NEAT1 可改善缺氧引起的 hPASMCs 增殖和迁移, 降低缺氧诱导的 PCNA 表达	miR-34a-5p/KLF4	[83]

Abbreviation: hPASMCs: human pulmonary artery smooth muscle cells; PASMCs: pulmonary artery smooth muscle cells; IPAH: idiopathic pulmonary arterial hypertension; CTD-PAH: connective tissue disease associated with PAH; HPH: hypoxia-induced pulmonary hypertension; TRPC6: transient receptor potential canonical 6; NA: not available.

Table 2. Down-regulated lncRNA in PASMCs of pulmonary hypertension
表 2. 肺动脉高压 PASMCs 中下调的 lncRNA

lncRNA	研究模型	使用的样本	重要研究发现	机制	参考文献
H19	大鼠 MCT 致 PH 模型	PASMCs	H19 下调增强 PASMCs 增殖, 减少细胞凋亡	miR200a/PDCD4 miR-675-3p/IGFIR	[45]
MEG3	PH 患者	肺组织、肺动脉、PASMC	通过 p53 通路增强缺氧的 PASMCs 增殖和迁移	p53 通路	[49]
MEG3	hPASMCs	hPASMCs	下调的 MEG3 通过调节 miR-21 抑制 PTEN 在缺氧条件下促进 hPASMCs 增殖和迁移	miR-21/PTEN	[50]
LnRPT	大鼠 MCT 致 PH	肺动脉、PASMCs	PDGF-BB 刺激 PASMC 后, LnRPT 下调, 促进 PASMCs 增殖	PDGF/PI3K/LnRPT/Notch3	[38]
CASC2	hPASMC 缺氧、PH 患者	PA、hPASMCs、患者血清	CASC2 下调, 通过 miR-222 使 ING5 表达降低, 促进缺氧诱导的 hPASMC 增殖和迁移, 促进肺血管重塑,	miR-222/ING5	[85] [86]
PAHRF	hPASMCs 缺氧、PH 患者	患者肺动脉、hPASMCs	PAHRF 表达下调, 使 MST1 表达降低, 刺激 hPASMCs 增殖, 抑制凋亡, 促进低氧性肺动脉高压的肺血管重构	PAHRF/miR-23a-3p/MST1	[87]
GAS5	SD 大鼠 HPH、hPASMCs 缺氧	hPASMCs	下调 GAS5 可促进 hPASMCs 增殖与迁移	GAS5/miR-23b-3p/KCNK3、miR-382-3p	[92]
RPS4L	小鼠 HPH	肺动脉	在缺氧小鼠的肺动脉中表达下调, 通过 HIF-1 α 调节 PASMCs 增殖、迁移和细胞周期进程; 过表达 RPS4L 可减轻缺氧引起的小鼠 RVSP 和 RV/(LV+S), 减轻肺血管重构, 抑制 PASMCs 细胞周期进程	ILF3/HIF-1 α 、RPS4L/RPS6	[94]
TCONS-00034812	大鼠 HPH、大鼠 PASMCs 缺氧	大鼠 PASMCs	TCONS-00034812 表达下调, STOX1 上调, 进而通过 MAPK 信号通路促进 PASMCs 的增殖和抑制凋亡	STOX1/MAPK	[97]
ANRIL	hPASMCs 缺氧	hPASMCs	抑制 ANRIL 可增加缺氧条件下 G2/M+S 期细胞百分比, 促进 hPASMCs 增殖和迁移能力, 且增加细胞增殖标志物 PCNA 和 Ki-67 的表达	PCNA 和 Ki67 增高	[101]
LncPTSRS	SD 大鼠 HPH 模型、PASMCs 缺氧	大鼠 PASMCs	体内体外研究均显示敲除 LncPTSRS 可促进大鼠 PASMCs 增殖、迁移和凋亡; 细胞内 Ca ²⁺ 浓度升高, 参与肺血管重构	MAPK/PMCA4/细胞内 Ca ²⁺ 稳态	[102]
MANTIS	IPAH 患者、大鼠 MCT 致 PH 模型	肺组织	MANTIS 可与 BRG1 相互作用, 调节参与血管生成蛋白的表达(SOX18、SMAD6 和 COUP-TFII), 影响血管生成及内皮细胞功能	BRG1	[105]

Abbreviation: RVSP: right ventricular systolic pressure; RV/(LV + S): ratio of the weight of the right ventricle to the sum of the weight of the left ventricle and septum (右心室肥厚指数)。

此外, 2020 年 Omura J 等[46]发表在 *Circulation* 的研究显示, 经 127 例特发性肺动脉高压患者、52 例结缔组织疾病相关 PAH (CTD-PAH)患者、以及大鼠野百合碱致肺动脉高压(MCT-PH)模型的外周血浆和右心室组织 qRT-PCR 分析发现 H19 显著上调, 且血浆 H19 水平较低的 IPAH 患者有较长的长期生存率。通过采用修饰的反义寡核苷酸(GapmeRs)靶向 H19 明显下调 H19 可改善 PH 患者的病理性右心室

重构和右心室功能[46]。该团队的研究结果显示 H19 作为一种新的治疗靶点, 可阻止右心室重构不良的发展, 并有望成为肺动脉高压严重程度和预后的生物标志物。

4.1.2. lncRNA Maternally Expressed Gene 3 (lncRNA MEG3)

缺氧微环境是 PSMCs 失调导致肺动脉高压发病的关键因素。到目前为止, 已发现多个 lncRNA 如 Tug1 [47]、Hoxa cluster antisense RNA 3 (HOXA-AS3) [48]和 maternally expressed gene 3 (MEG3) [49]在小鼠缺氧诱导的 PH 模型中表达上调, 通过缺氧信号通路促进 PSMCs 的增殖和迁移。MEG3 是位于人类 14q32.3 染色体上的印记基因, 在多种癌症中表达下调, 曾被认为是一种肿瘤抑制因子。2017 年 Sun Z 等[49]在人群样本的研究显示, 与对照组相比, MEG3 在 PH 患者的肺组织和肺动脉中显著下调, MEG3 下调所诱导的 PSMCs 增殖可通过 p53 通路来调节, 从而增强低氧状态下人 PSMCs (human pulmonary artery smooth muscle cells, hPSMCs)增殖和迁移; 2018 年 Zhu B 等人[50]研究发现在缺氧状态下 MEG3 在 hPSMCs 中下调, 下调的 MEG3 可通过调节 miR-21 抑制 PTEN 在缺氧条件下促进 hPSMCs 增殖和迁移。

然而 2019 年 Xing Y 等人[51]关于 MEG3 的研究显示了与前述完全相反的结果, 该团队发现 MEG3 在缺氧引起的 PH (hypoxia-induced pulmonary hypertension, HPH)小鼠肺动脉和特发性肺动脉高压患者的 PSMCs 中均明显升高, 促进 PSMCs 增殖[51]; 且 MEG3 可通过 nt 2071-2094 直接与 miR-328-3p 结合, 上调的 MEG3 作为分子海绵可隔离 miR-328-3p, 导致胰岛素样生长因子 1 受体(IGF1R)表达增加, 从而促进 PSMCs 过度增殖, 促进 HPH 的发展。不同研究中 MEG3 表达趋势的差异可能是由于细胞分布、时间点、内部参考差异以及选择的 MEG3 转录突变体不同所致, 因此, 需要更多更深入研究来验证 MEG3 在 PH 中的作用。

4.2. 肺动脉高压 PSMCs 中上调的 lncRNA

4.2.1. Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1 (MALAT1)

肺腺癌转移相关转录本 1 (MALAT1)又称 NEAT2 或长基因间非蛋白编码 RNA47 (LINC00047)是一种广泛表达高度保守的 lncRNA, 长度超过 8 kb, 位于人类染色体 11q13 和小鼠染色体 19qA 内[52], 它是目前研究最多的 lncRNA 之一, 参与胃癌、前列腺癌和非小细胞肺癌等多种癌症的发病机制。Wang D 等[37]报道了 MALAT1 在遗传性肺动脉高压(HPAH)患者的肺动脉组织和 PSMCs 中显著高于与健康者, MALAT1 过表达可促进 HPAH 患者 PSMCs 增殖, 增加细胞周期蛋白的表达, 使细胞处于 G2/M+S 期的百分比增加, 而敲低 MALAT1 显著抑制细胞活力和增殖, 阻止细胞进入 G0/G1 细胞周期。与 H19 类似, MALAT1 已被确定为 PSMCs 中的 ceRNA, 它通过海绵化抑制 miR-124-3p.1, 间接上调 Kruppel 样因子 5 (KLF5)转录因子和下游信号, 从而引起细胞周期过度活跃, 增强 PSMCs 的增殖和迁移[37]。此外, 持续缺氧 5 周的 PH 小鼠肺组织、以及低氧条件的 hPSMCs 可显著增加 MALAT1 的表达[53], 靶向干扰 MALAT1 可影响 PSMCs 表型, 通过诱导细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂的表达, 抑制 PSMCs 增殖和迁移[53]。而 Zhuo Y 等[54]中国南方人 PH 易感性的病例对照研究(587 例 PH 患者 vs 健康对照者)在 MALAT1 基因上识别到与 PH 易感性相关的单核苷酸多态性 rs619586A > G, G 变异基因型携带者患 PH 的风险可降低。进一步的功能实验表明, rs619586A > G 可内源性竞争 miR-214 而直接上调 X box-binding protein 1 (XBPI)的表达, 通过缩短 S-M 相变, 从而抑制血管内皮细胞的增殖和迁移[54]。此外, 还有研究表明 MALAT1 在 PH 患者血浆和缺氧诱导的 hPSMCs 中高表达, 通过调节 miR-503/Toll 样受体 4 促进 hPSMCs 增殖和迁移[55]。这显示 MALAT1 可能通过多种路径促进 PSMCs 的增殖。

4.2.2. lncRNA Taurine-Up-Regulated Gene 1(lncRNA TUG1)

非编码 RNA 牛磺酸上调基因 1(TUG1)最初是在牛磺酸处理的小鼠视网膜细胞的基因组筛选中发现,是定位于人类基因组 22q12.2 染色体上高度保守的 lncRNA,由 7598 个核苷酸组成[56]。TUG1 可通过染色质重构、充当 micro-RNAs 或蛋白质的诱饵等不同的表观遗传机制在多种生物过程中发挥作用。研究表明 TUG1 在缺氧诱导的 PH 小鼠及 PSMCs 中表达上调[57],通过内源性竞争抑制 miR-328-3p 促进 PSMCs 的增殖反应(包括细胞活力、5-溴脱氧尿苷掺入、增殖细胞核抗原的表达和细胞周期进展)。Yang L 等[47]通过缺氧诱导的 PH 模型发现, TUG1 在 HPH-PSMCs 中明显升高,且升高的 TUG1 可通过海绵化 miR-374c 增强 Foxc1 的表达,从而通过 Notch 信号刺激 PSMCs 的增殖和迁移、抑制凋亡,加重肺血管重构;而沉默 TUG1 则是相关的效应,抑制 HPH 肺血管重构[8]。这些研究表明, TUG1 在 PH 血管重塑中起着关键作用,对 PH 的治疗具有重要意义。然而, TUG1 是否还通过炎症、免疫反应、内皮-间质转化及表型转换等其他机制调节 PH 还需进一步的研究。

4.2.3. lncRNA HOXA Cluster Antisense RNA 3 (lncRNA HOXA-AS3)

HOXA-AS3 是一种新发现的 lncRNA,具有 25,952 个碱基,位于人类染色体 7p15.2, HOXB5 3'端下游 900 nt 处,属于 HOX 基因簇,是一组高度同源的转录因子,可调节胚胎发育和造血谱系和分化[58]。大量研究表明, HOXA-AS3 的表达与多种人类疾病和病理生理过程有关,包括肝癌、胶质瘤、肺癌、口腔癌、结直肠癌、胃癌、胰腺癌、子宫内膜异位症、动脉粥样硬化、肺动脉高压,甚至与间充质干细胞(MSCs)的谱系分化有关。高表达 HOXA-AS3 的肿瘤恶性程度更高,且 HOXA-AS3 可通过诱导细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭、化疗耐药、MSCs 分化等多种细胞过程,调控多种疾病的发生和进展[58]。Li ZK 等[59]在缺氧刺激的 hPSMCs 中发现 HOXA-AS3 和磷酸二酯酶 5A (phosphodiesterase 5A, PDE5A)表达上调, miR-675-3p 表达下调,敲低 HOXA-AS3 可明显抑制 hPSMCs 增殖和迁移,诱导凋亡;采用双荧光素酶报告基因验证了 HOXA-AS3 与 miR-675-3p 的相关性,且 miR-675-3p 可直接靶向 PDE5A,进一步的细胞实验显示 HOXA-AS3 通过调控 miR-675-3p/PDE5A 轴促进 PH 的发展。然而这些结果仅限体外实验,尚缺乏体内研究的证据,而 Zhang H [48]等人的研究正好弥补这一点,该团队在缺氧和 MCT 分别诱导的 PH 小鼠模型中发现 HOXA-AS3 在肺血管中均上调,在临床收集的 PH 患者肺组织中也表达增高,并促进 PSMCs 的增殖;组蛋白 3 赖氨酸 9(H3K9)乙酰化促进缺氧刺激的 PSMCs 表达 HOXA-AS3,细胞流式显示缺氧增加了 PSMCs 中 S+G2/M 期细胞的百分比,过表达的 HOXA-AS3 可上调 cyclin A、cyclin D 和 cyclin E 表达水平,通过加速细胞周期调节 PSMCs 增殖能力;并采用 Hoxa3 或 LacZ 的反义探针针对 PSMCs 进行 ChIRP 实验,结果表明 HOXA-AS3 能直接结合到其对应的 Hoxa3 基因区域,HOXA-AS3 敲低可抑制 PSMCs 中 Hoxa3 的表达,证实高水平的 HOXA-AS3 通过上调 PSMCs 中 Hoxa3 mRNA 和蛋白水平来调节细胞周期分布[48]。

4.2.4. lncRNA Tyrosine Kinase Receptor Inducing lncRNA (lncRNA TYKRIL)

Zehendner 等人[60]利用 IPAH 患者的 PSMCs、周细胞(pericytes)和缺氧诱导的 PSMC、周细胞的 RNAseq 数据分析,发现了一种新的 lncRNA,称为酪氨酸激酶受体诱导 lncRNA (TYKRIL),生物信息学分析发现其是所有条件下唯一普遍上调的 lncRNA。HIF、PDGF、IL-18 和 TGF- β 等促肺动脉高压因子可诱导 TYKRIL 表达上调。在这些高增殖条件下, TYKRIL 作为 p53 诱饵,可调节 PDGFR β 的表达,已证明 TYKRIL 通过 p53/PDGFR β 信号轴促进 PSMC 的增殖并抑制凋亡;由于 TYKRIL 在动物体内的保守性较差, Zehendner 对 IPAH 患者肺部采集的离体精确切割肺片(PCLS)进行了研究,发现 GapmeR 介导的 TYKRIL 在 PCLS 中下调可逆转肺血管重构,提示 TYKRIL 对 IPAH 和缺氧相关 PH 有潜在的治疗作用[60]。此外, TYKRIL 在缺氧的内皮细胞和 IPAH 患者分离的内皮成纤维细胞中也上调,观察到 TYKRIL 在原

代培养的人周细胞中也可发挥相关病理生理功能, 调节内皮细胞的分化和增殖[60]。

4.2.5. lncRNA Urothelial Carcinoma Associated 1 (lncRNA UCA1)

尿路上皮癌相关蛋白 1 (UCA1)位于人类染色体 19p13.12 上, 其整个序列由三个外显子组成, 分别编码长度为 1.4 kb、2.2 kb 和 2.7 kb 的三个亚型, 在膀胱移行细胞癌中首次发现 UCA1 显著上调, 并作为膀胱癌特异性标志物可在多种肿瘤中异常表达[61]。研究证实, UCA1 在细胞增殖、侵袭、迁移、凋亡、转移等多个细胞过程中发挥重要作用[62]。有研究通过 lncRNAs 微阵列芯片分析发现, 在缺氧的 hPASCs 中, UCA1 明显高表达[63]。在缺氧条件下, lncRNA UCA1 通过与 ING5 竞争 hnRNP I 来促进缺氧的 hPASCs 增殖并抑制细胞凋亡[63], 这为低氧性肺动脉高压的治疗提供了新的研究思路。

4.2.6. lncRNA Smooth Muscle-Induced lncRNA Enhanced Replication (SMILR)

平滑肌富集 lncRNA (SMILR)在 PH 患者、MCT 诱导的 PH 大鼠模型和缺氧诱导的人 PASCs (hPASCs)中被证明高表达。此外, 体外研究表明, 下调 SMILR 可通过靶向 miR-141 抑制缺氧诱导的 PASCs 增殖和迁移。尤其在 MCT 诱导的 PH 大鼠模型中, SMILR shRNA 通过靶向 miR-141 调控 RhoA/ROCK 信号通路改善 PH 和肺血管重构[64], 这表明靶向 SMILR 在治疗 PH 方面具有很大的潜力。Ballantyne MD 已证明 PDGF 和 IL-1 α 刺激 hSVSMCs 可增加 SMILR 的表达, 增加细胞增殖, 可能与近端基因 HAS2 的调节能力有关, 确定了 SMILR 是血管平滑肌细胞增殖的驱动因素[65]。另一项研究表明 SMILR 可直接调节有丝分裂晚期蛋白 CENPF (着丝粒蛋白 F) mRNA 与 Staufen1 RNA 结合蛋白的相互作用, 促进增殖, 并驱动细胞周期进程, 靶向限制血管重构, 证实 SMILR 是血管平滑肌细胞增殖的关键介质[66]。但目前 SMILR 在 PH 中的研究仍十分有限, 未来需要更多的研究去证实其在 PH 中的作用。

4.2.7. Long Intergenic Noncoding RNA COX2 (lincRNA-COX2)

lincRNA-Cox2 位于蛋白编码基因 Cox2 (也称 Ptg2)上游 51 kb 处, 是调节炎症反应的关键组成部分[67]; 在 CD11c+骨髓源性的树突状细胞中, Tlr4 刺激后 lincRNA-Cox2 表达增加近 1000 倍, 可结合 NF- κ B p65 并促进其核易位和转录, 调节炎症小体传感器 NLRP3 和 ASC 的表达[68]。最近的一项研究表明, 在 PH 患者的外周血和缺氧的 PASCs 中, lincRNA-COX2 表达上调[69]; 进一步的功能研究表明, 在缺氧条件下, 下调 lincRNA-COX2 通过影响细胞周期的 G2/M 期抑制缺氧 PASCs 的增殖及迁移; 该研究还发现 lincRNA-COX2 通过 miR-let-7a/STAT3 信号轴调控 PH 的发展[69]。这些发现提示 lincRNA-COX2 在 PH 的发生中具有重要作用。

4.2.8. lncRNA-Ang362 (lnc-Ang362)

Leung A 等人[70]用 Ang II 处理大鼠血管平滑肌 3 小时后进行 RNA 测序, 检测到多个 lncRNA 上调, 其中包括 lnc-Ang362, 邻近基因 miR-221 和 miR-222。以往的研究显示 miR-221 和 miR-222 在 PH 患者和 SU-5416/hypoxia 大鼠 PH 模型的 PASCs 中显著上调, 促进 PASCs 增殖增加、凋亡减少, 从而触发 PH [71]。最近的一项研究显示, 肺动脉高压患者肺组织及缺氧 PASCs 中 lnc-Ang362、miR-221、miR-222 均明显升高且促进人肺动脉平滑肌细胞(hPASCs)增殖和迁移, 减少细胞凋亡[72]; miR-221 或 miR-222 的敲低可抑制 hPASCs 增殖、迁移和凋亡; 进一步的机制研究显示 lnc-Ang362 可上调 hPASCs 中 miR-221 和 miR-222 的表达, 进而激活 NF κ B 信号通路, 调控 hPASCs 生物学功能[72]。因此, lnc-Ang362 可作为一种新的治疗 PH 的候选 lncRNA。

4.2.9. lncRNA PAXIP1-AS1

PAXIP1-AS1 亦是新发现的 lncRNA 之一, 目前其生物学功能研究有限。在一项小样本的研究中发现 PAXIP1-AS1 在 IPAH 患者的肺小动脉、血管外膜成纤维细胞和 PASCs 中表达上调; 而下调 PAXIP1-AS1

可通过靶向其下游的 paxillin 蛋白促进细胞凋亡、抑制 PSMCs 增殖和迁移[73]。然而,从这项研究来看,尚不清楚 PAXIP1-AS1 是否在疾病发展中起作用,还是仅仅作为重塑过程的结果。Song R 等[74]亦发现 PAXIP1-AS1 的表达在大鼠 MCT-PH 模型肺组织(体内实验)和缺氧的 PSMCs 中(体外实验)均显著升高,下调 PAXIP1-AS1 可抑制缺氧诱导的 hPSMCs 细胞活力和迁移。该研究通过双荧光素酶报告基因法、共免疫沉淀法、RIP 和 CHIP 法发现 PAXIP1-AS1 通过募集转录因子 ETS1 与 WIPF1/RhoA 形成复合体,调节 WIPF1/RhoA 信号通路,促进缺氧诱导的 hPSMCs 的细胞活力和迁移[74]。

4.2.10. lncRNA AC068039.4

Qin Y 等人[75]通过芯片分析低氧和常氧条件下 PSMCs 差异表达的 lncRNA,发现共有 1211 个 lncRNA (其中 698 个上调,513 个下调)在缺氧的 PSMCs 中表达有明显差异。后经 qPCR 证实 AC068039.4 在缺氧诱导的 PSMCs 中明显上调;敲除 AC068039.4 可减轻 PSMCs 的增殖和迁移,并通过抑制细胞进入 G0/G1 期来调节细胞周期进程。进一步实验表明 AC068039.4 通过海绵作用 miR-26-5p 促进缺氧 PSMCs 的增殖,且证实瞬时受体电位规范 6 (transient receptor potential canonical 6, TRPC6)是 miR-26a-5p 的靶基因。因此,lncRNA AC068039.4 下调可通过 miR-26a-5p/TRPC6 轴抑制肺血管重构,为低氧性肺动脉高压的治疗提供了新的思路。

4.2.11. LINC00963

Long intergenic noncoding RNA 00963 (LINC00963)又称 MetaLnc9,位于人类染色体 9q34.11,全长约 2.1 kb,自 2014 年首次报道以来[76],发现 LINC00963 可在 16 种癌症中表达上调。异常表达的 LINC00963 可通过 PI3K/AKT 信号通路、Wnt 信号通路、MAPK 信号通路中发挥调控作用,调节细胞增殖、迁移、侵袭、EMT 和凋亡等多种细胞过程发挥致癌作用[77]。LINC00963 通过竞争性结合多种 miRNAs,形成复杂的 ceRNA 网络。Yang C 等[78]报道了缺氧的 PSMCs 和 C57 小鼠 HPH 模型中 LINC00963、PFN1 高表达,miR-328-3p 低表达,转染 si-LINC00963 或 miR-328-3p 类似物可显著抑制缺氧诱导的 PSMCs 活力、迁移及 VEGF、FGF-2 和 HIF- α 的表达,该研究发现沉默 LINC00963 可通过调节 miR-328-3p/PFN1 改善低氧性 PH [78]。

4.2.12. lncRNA plasmacytoma variant translocation 1(lncRNA PVT1)

lncRNA 浆细胞瘤变异体易位 1 (PVT1)由位于癌症相关区域的基因编码:小鼠为 15 号染色体(qD1)长臂,人类为 8 号染色体(8q24)长臂。人类 PVT1 基因组位点位于原癌基因 MYC 下游 54 kb 处。1992 年,Huppi K 等人[79]首次发现 PVT1 转录本在小鼠 B 淋巴细胞瘤中伴随着染色体易位和扩增。以往的研究显示 MYC 的致癌功能依赖于 PVT1 的表达,这两个基因有一定的相互作用,协同驱动肿瘤发生[80]。PVT1 位点包含至少 12 个外显子,具有多个可选剪接的非编码转录物,在不同人体组织中表现出显著的差异表达:心脏和肾上腺的表达水平最高,在白细胞和淋巴结的表达水平最低。已证明 PVT1 在癌症和其他疾病中起着至关重要的作用。最近的研究还发现缺氧可致 PVT1 上调,进而通过 miR-186/Srf/Ctgf 和 miR-26b/Ctgf 信号通路调节缺氧诱导的 PSMCs 自噬,从而加重肺动脉平滑肌细胞增殖[81]。

4.2.13. lncRNA Nuclear Paraspeckle Assembly Transcript 1 (lncRNA NEAT1)

核旁斑组装转录本 1 (NEAT1)转录自家族性肿瘤综合征多发性内分泌肿瘤 1 型位点,该基因可编码两个转录本,即 NEAT1-1 (长度 3.7 kb)和 NEAT1-2 (长度 23 kb) [82]。NEAT1 是一个重要的核成分,参与多种病理生理过程,下调可导致旁斑分解。尽管核旁斑的确切功能尚不清楚,但它们与黄体 and 乳腺的发育以及髓样分化有关。NEAT1 在肺癌、食管癌和胃癌等多种恶性肿瘤中上调,但在急性早幼粒细胞白

血病中下调[82]。NEAT1 过表达可促进肿瘤进展、加重炎症反应、哮喘和慢性阻塞性肺疾病患者的肺功能下降。近年亦有报道 NEAT1 在肺动脉高压患者的血清中显著升高, 在缺氧处理的 hPASCs 中也显著增加, 采用 sh-NEAT1-1/-2 敲低 NEAT1 可明显改善缺氧引起的 hPASCs 增殖和迁移, 明显降低缺氧诱导的增殖相关蛋白 PCNA 升高, 且证明下调 NEAT1 可通过体外调节 miR-34a-5p/KLF4 改善缺氧所致肺动脉平滑肌细胞的迁移和增殖[83]。由此可见, NEAT1 可能作为潜在新的治疗靶点。

4.3. 肺动脉高压 PASCs 中下调的 lncRNA

4.3.1. lncRNA LnRPT

lncRNA LnRPT 是 Chen J 等[38]在 PDGF-BB 处理 12 小时的大鼠 PASCs (rPASCs) RNA 测序中鉴定出表达下调且抑制 PASCs 增殖的 lncRNA。另外, 在 MCT 所致 PH 大鼠模型的体内实验中也发现 LnRPT 在该模型大鼠肺动脉中表达下调[38]。经 PDGF-BB 和 TGF- β 刺激 PASCs 后, 通过 PI3K 下调 LnRPT, 可致细胞周期蛋白 CCNA2 表达升高和 Notch 信号通路激活, 从而使 PASC 增殖增加[38]。这是首次关于 PDGF-PI3K-LnRPT-Notch3 信号轴在调节 PASCs 增殖中起重要作用的报道。然而 PI3K 如何影响 LnRPT 的表达目前尚未可知。

4.3.2. lncRNA Cancer Susceptibility Candidate 2 (CASC2)

癌症易感候选物 2 (CASC2)是一种肿瘤因子, 因其可从不同机制影响细胞的增殖、分化的作用, 近年来广泛受到肿瘤研究领域的关注[84]。Gong [85]等人在缺氧诱导的 PH 大鼠肺动脉、hPASCs 中发现, CASC2 的表达水平显著降低。体内外实验证明, CASC2 的过表达可通过抑制细胞增殖、迁移, 改善大鼠缺氧诱导的 PH 模型中平均肺动脉压降低、右心室肥大、肺血管壁增厚和纤维化等病理特征, 但其抑制细胞增殖的分子机制尚需进一步探究。2020 年, Han Y [86]等人在缺氧诱导的 hPASC 及 30 例 PH 患者的血清中也同样发现 CASC2 呈下调趋势, 并且 CASC2 通过调节 miR-222/ING5 信号轴抑制肺血管重塑, 从而改善缺氧诱导的 hPASCs 增殖和迁移, 该研究为缺氧诱导的 PH 提供了新的见解和治疗策略, 血清 CASC2 有望成为肺动脉高压早期诊断的生物标志物。

4.3.3. lncRNA Pulmonary Arterial Hypertension Related Factor (lncRNA PAHRF)

肺动脉高压相关因子(PAHRF)位于人类基因组第 14 号染色体上, 又称为 NONHSAT169231.1, 研究表明, PAHRF 在 PH 患者的肺动脉和缺氧的 hPASCs 中均下调, 而 PAHRF 过表达抑制 hPASCs 细胞增殖, 促进细胞凋亡; 反之亦然。进一步的机制研究表明, PAHRF 表达下调可通过减少内源性吸附 miR-23a-3p, 通过下调 MST1 表达刺激 hPASCs 增殖, 抑制其凋亡, 从而促进低氧性肺动脉高压的肺血管重构[87]。因此, PAHRF/miR-23a-3p/MST1 信号轴可能通过改善肺血管重构成为治疗 PH 的可能靶点。

4.3.4. lncRNA Growth Arrest-Specific Transcript 5 (GAS5)

生长停滞特异性转录本 5 (GAS5)位于染色体 1q25 位点, 全长 630 个核苷酸, 最初在生长停滞的细胞中被发现, 作为糖皮质激素受体(GR)的诱饵反应元件, 阻断激活 GR 的基因表达上调[88]。已发现 GAS5 在胃癌、胰腺癌、结直肠癌和食管癌等多种人类癌症中下调, 发挥肿瘤抑制作用[89] [90]。据报道, GAS5 通过 RNA Smad 结合元件调节 TGF- β 诱导的平滑肌细胞分化, 抑制平滑肌细胞收缩蛋白的表达[91]。最近在缺氧诱导的 SD 大鼠 PH 模型和缺氧处理的 hPASCs 中发现 GAS5 表达水平较低[92], 用 siRNA 下调 GAS5 表达可促进体外 hPASCs 的增殖与迁移。此外, GAS5 可结合 miR-23b-3p, 缓解 miR-23b-3p 对 KCNK3 的抑制作用, 从而增加 KCNK3 的表达, 通过 GAS5/miR-23b-3p/KCNK3 信号轴调控 hPASCs 增殖和迁移[92]。

慢性血栓栓塞性肺动脉高压(chronic thromboembolic pulmonary hypertension, CTEPH)是肺动脉高压

(PH)的主要原因之一。在 PDGF-BB 处理 PAMSCs 的细胞 CTEPH 模型中也发现 GAS5 的表达下调, GAS5 通过靶向 miR-382-3p 不仅抑制 PAMSCs 的活力和迁移, 还可抑制 CTEPH 大鼠的平均肺动脉压, 抑制肺动脉壁增厚和血管生成, 并促进自噬[93]。然而 GAS5 在哺乳动物中或体内研究较少。

4.3.5. lncRNA Ribosomal Protein S4-Like (RPS4L)

Liu 等人[94]采用高通量 RNA-Seq 分析鉴定缺氧小鼠的肺动脉中与 PH 相关的 lncRNAs, 鉴定出 19 种差异 lnc RNA, 其中 9 个上调, 10 个下调, lncRNA RPS4L 是缺氧下调中最显著的 lncRNA 之一, 并在缺氧的 PAMSCs 中也验证了这一点。RPS4L 主要定位于细胞核, 可通过白介素增强结合因子 3 (interleukin enhancer-binding factor 3, ILF3)调控缺氧诱导因子 1 (HIF-1 α)介导的 PAMSCs 细胞增殖、迁移和细胞周期进程等功能。而转基因小鼠过表达 RPS4L 可减轻缺氧引起的小鼠右心室收缩压(RVSP)和右心室肥厚指数 (RV/(LV + S))的增强, 减轻肺血管重构, 抑制 PAMSCs 细胞周期进程。体内体外实验均证明了缺氧的 PAMSCs 中 RPS4L 表达降低可通过 ILF3/HIF-1 α 信号通路促进肺血管重构和细胞周期进程。尽管这些发现使缺氧诱导 PH 的发病机制更加完善, 为研究新的治疗方法提供了重要依据, 但该动物模型不能完美、全面地模拟人类 PH 的病理特征, 还需在不同的动物模型(如 MCT 模型、缺氧 + SU5416 模型等)及 PH 患者的组织和细胞中进一步研究。

同一研究小组在另一项研究中发现, 缺氧 PAMSCs 中的 RPS4L 可编码一条新肽, 称为 RPS4XL (RPS4X isoform-like) [95], 该肽在缺氧诱导的 PH 小鼠模型和缺氧 PAMSCs 中下调, 通过抑制其结合蛋白 RPS6 磷酸化来抑制缺氧引起的 PAMSCs 增殖, 提示该肽在低氧性 PH 中发挥作用。此外, RPS4L 过表达可抑制缺氧诱导的 PAMSCs 焦亡[96], RPS4L 过表达亦引起 RPS4XL 表达增加, 而编码肽 RPS4XL 通过结合 HSC70 糖基化位点抑制缺氧诱导的 PAMSCs 细胞焦亡, 从而改善血管重构[96]。

4.3.6. lncRNA TCONS-00034812

根据 NCBI 数据库, lncRNA TCONS-00034812 位于大鼠 12 号染色体上。凋亡抑制是 PAMSCs 发病的主要原因, 可直接导致细胞增殖失调。与常氧大鼠相比, 低氧 PH 大鼠 PAMSCs 中 TCONS-00034812 的表达显著下调[97]。TCONS-00034812 负调控转录因子 STOX1 (storkhead box transcription factor 1) 的表达, 当 TCONS-00034812 被敲低时, STOX1 上调, 进而通过 MAPK 信号通路促进 PAMSCs 的增殖和抑制凋亡[97]。这是首次报道 TCONS-00034812 这个新的 lncRNA 参与低氧性肺动脉高压血管重构的发生机制, 进一步丰富了 lncRNA 功能在 PH 研究领域的认识。另一项研究还显示, TCONS-00034812 在动脉粥样硬化患者的动脉样本中明显上调, 并通过血管平滑肌细胞中的甲基化上调 miR-21, 从而促进人主动脉平滑肌细胞(HAOSMCs)增殖[98]。

4.3.7. lncRNA Antisense Noncoding RNA in the INK4 Locus (ANRIL)

lncRNA ANRIL 是在黑色素瘤 - 神经系统肿瘤综合征家族的研究中首次被发现和命名。是长约 126 kbp 的 lncRNA, 定位于染色体 9p21 区域的 INK4 位点上, 含 19 个外显子。先前的一项研究显示, ANRIL 与约 40%的肿瘤有关, 且在心血管疾病、肿瘤和糖尿病等多种疾病中调节细胞增殖、迁移和细胞周期进程[99]。近来关于 ANRIL 的研究发现其可加速动脉粥样硬化的发展, 是冠心病的危险因素[100]。ANRIL 的异常表达不仅与血管内皮损伤有关, 还参与血管平滑肌细胞的增殖、迁移和凋亡、竞争内源性 RNA 等。此外, Wang S 等人[101]还发现在缺氧诱导的 hPAMSCs 中明显下调, 用 siRNA 抑制 ANRIL 可明显增加缺氧条件下 G2/M+S 期细胞百分比, 促进细胞增殖和迁移能力, 且细胞增殖标志物 PCNA 和 Ki-67 的表达也明显增加。提示 ANRIL 是缺氧诱导的 hPAMSCs 的关键调节因子, 对 PH 的靶向治疗具有深远意义。然而, 缺氧介导的 ANRIL 下调在 PH 发病过程中参与细胞功能改变和肺血管重构的具体分子机制还有待进一步研究。

4.3.8. lncPTSR

根据 5'/3' RACE 获得的 lncPTSR 全长, lncPTSR 是哺乳动物中高度保守的 lncRNA, 位于 *Rattus norvegicus* 鼠 13 号染色体 plasma membrane Ca^{2+} transporting 4 (PMCA4) 基因上游, 定位于细胞核。通过 qPCR 验证 lncPTSR 在野生型 Sprague Dawley 大鼠各器官中的转录本量, 结果显示 lncPTSR 在肺动脉、肺和脑中高表达; 而在 PDGF-BB 刺激或缺氧诱导的 PASMCs 中明显降低[102]; 使用 si-RNA 介导的 lncPTSR 基因敲低可促进大鼠 PASMCs 增殖、迁移和凋亡。体内实验发现, 注射 AAV9-shRNAs 敲低 lncPTSR 的大鼠经持续低氧 3 周后, 常氧饲养的大鼠较低氧诱导的肺血管重构和右心室收缩压显著加重, 大鼠 PASMCs 中 PMCA4 的 mRNA 和蛋白表达均减弱, 大鼠肺动脉中的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高, 减弱了 PASMCs 内 Ca^{2+} 外排。该研究表明, lncPTSR 通过调节 PDGF-BB 驱动的 MAPK/胞外信号调节的激酶信号下游的质膜 ATP 酶钙转运体 4 (ATPase plasma membrane Ca^{2+} transporting 4, PMCA4) 表达和细胞内 Ca^{2+} 稳态参与肺动脉重塑[102]。

4.3.9. lincRNA-p21

2014 年 Wu G 等[103]发表在 *Circulation* 的一项研究中显示, lincRNA-p21 在动脉粥样硬化斑块中表达降低, 并发现 lincRNA-p21 在体外培养的人血管平滑肌细胞(VSMCs)中抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡, 且通过 p53 途径调节细胞增殖和凋亡。最近另一项研究还发现 p53 依赖性 lincRNA-p21 可通过 microRNA-17-5p 上调 SIRT7 抑制动脉粥样硬化血管平滑肌细胞增殖, 抑制动脉粥样硬化的进展[104]。以往研究说明, lincRNA-p21 是血管细胞增殖和凋亡的关键调节因子, 而血管细胞增殖和凋亡是血管重塑的主要贡献者, 因此推测 lincRNA-p21 在其他心血管疾病如肺动脉高压中也可发挥作用, 具有较大的研究前景。

4.4. 其他与内皮功能障碍相关的 lncRNA

Leisegang MS 等人[105]在通过外显子测序检测去除组蛋白去甲基化酶(JARID1B)的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)差异表达的 lncRNA 时, 发现了 lncRNA MANTIS (又称 n342419), 是一种受 JARID1B 抑制的核定位 lncRNA, 在染色质调节方面发挥重要作用。特发性肺动脉高压(IPAH)患者和大鼠 IPAH 疾病模型(MCT 诱导的 PH)中 MANTIS 表达明显减少。MANTIS 可与 SWI/SNF 催化亚基 BRG1 相互作用, 并调节 SOX18、SMAD6 和 COUP-TFII 蛋白表达, 这些基因都参与血管生成调节。通过 CRISPR/Cas9 介导的小干扰 RNA 或 GapmeRs 等技术对 MANTIS 进行功能性沉默后观察血管生成、出芽、内皮细胞对剪切应力的反应和 ECs 迁移能力均显著抑制。此外, MANTIS 在主动脉、淋巴管、肺动脉内皮细胞中也表达, 从不同动脉、成纤维细胞、MCF-7 细胞中分离的人平滑肌细胞中也可检测到 MANTIS [105]。

亚精胺(Spermidine, SP)可作为多种细胞中的自噬诱导剂, Wu Q 等人[106]在 SP 诱导的慢性血栓栓塞性肺动脉高压(CTEPH)患者肺动脉内皮细胞(PAECs)及大鼠 CTEPH 模型的 PAECs 中发现 GAS5 表达明显增强, 并作为 PAECs 中的自噬增强子, GAS5 可通过靶向 miRNA-31-5p/NAT8L 信号通路促进 PAECs 中 SP 诱导的自噬。

5. lncRNA 在 PH 治疗中的应用和面临的挑战

目前, 肺动脉高压仍然是一种高发病率和死亡率的疾病。因此, 要成功治疗这种疾病, 深入了解 PH 发生发展的所有分子机制是必不可少的。在过去的几年中, 越来越多的证据表明 lncRNAs 在 PH 的发病机制中发挥关键作用。因此, 深入了解它们的功能和作用机制对于开发新的有效治疗方法至关重要。已发现 lncRNA MALAT1 基因组序列的单核苷酸多态性(rs619586 A > G)与中国人 PH 发病低风险有关[54]。据报道, 由于这种多态性, miR-214 海绵位点暴露使 XBP1 表达上调[54]从而促进 PH 的发生。

lncRNA 的表达具有高度的细胞和组织特异性, 针对 lncRNA 的治疗将是一种非常有潜力的个性化治

疗的方法。例如, 在 H19 基因启动子的调控下将含有白喉毒素基因的双链 DNA 质粒 BC-819 靶向注射到小鼠膀胱肿瘤中, 可使肿瘤体积减小[107]。BC-819 与 Bacilli Calmette Guerin (BCG) 的联合使用可显著改善患者预后, 在非肌肉浸润性膀胱癌患者 2 期临床试验的 24 个月中, 无复发生存率为 54.1%, 无进展生存率为 75.7% [108]。这表明基于 lncRNA 的治疗具有很好的前景。

然而目前为止, 还没有针对 PH 中 lncRNA 的临床试验, 主要是因为 lncRNA 的基础研究还存在诸多困难需要解决。例如, lncRNA 在物种间的保守性较差, 目前的机制研究多在动物疾病模型中开展, 若要开发用于人类 lncRNA 的新药较为困难。第二, 目前在该领域的大多数研究都集中在预先选择的 lncRNA, 而不是鉴定在 PH 发病机制中最重要的特定 lncRNA。第三, 有些 lncRNA 虽然在体外和体内 PH 研究中显示出良好的治疗潜力, 然而在临床研究中, 由于 lncRNA 可能对不同细胞和组织类型的多种通路产生影响, 若使用 lncRNA 治疗疾病还需反复验证, 小心谨慎。第四, 在相同的 lncRNA 中可能存在多个 miRNA 的结合位点, 但大多数研究只关注单个 lncRNA 和单个 miRNA 的相互作用, 而没有关注 lncRNA 的整体效应。第五, 从基础研究到成功转化为临床应用还须提高 RNA 药物在循环中的稳定性、确定适当的递送途径、提高递送系统的效率和持续时间、限制脱靶效应以及调整患者特异性剂量等等[109]。因此, 探寻 lncRNAs 在 PH 的发病机制中的作用、作为生物标志物和临床用药还有很长的路要走。

6. 小结

综上所述, lncRNAs 在肺血管重构和肺动脉高压的许多生物过程中发挥重要作用。失调的 lncRNAs 可致 PASCs 功能失调, 如细胞增殖、凋亡、迁移、表型转换调控、细胞周期等, 促使 PH 的发生和发展。lncRNA 的作用机制非常复杂, 在血管平滑肌细胞中可通过与 miRNA 竞争结合 mRNA 靶基因发挥作用,

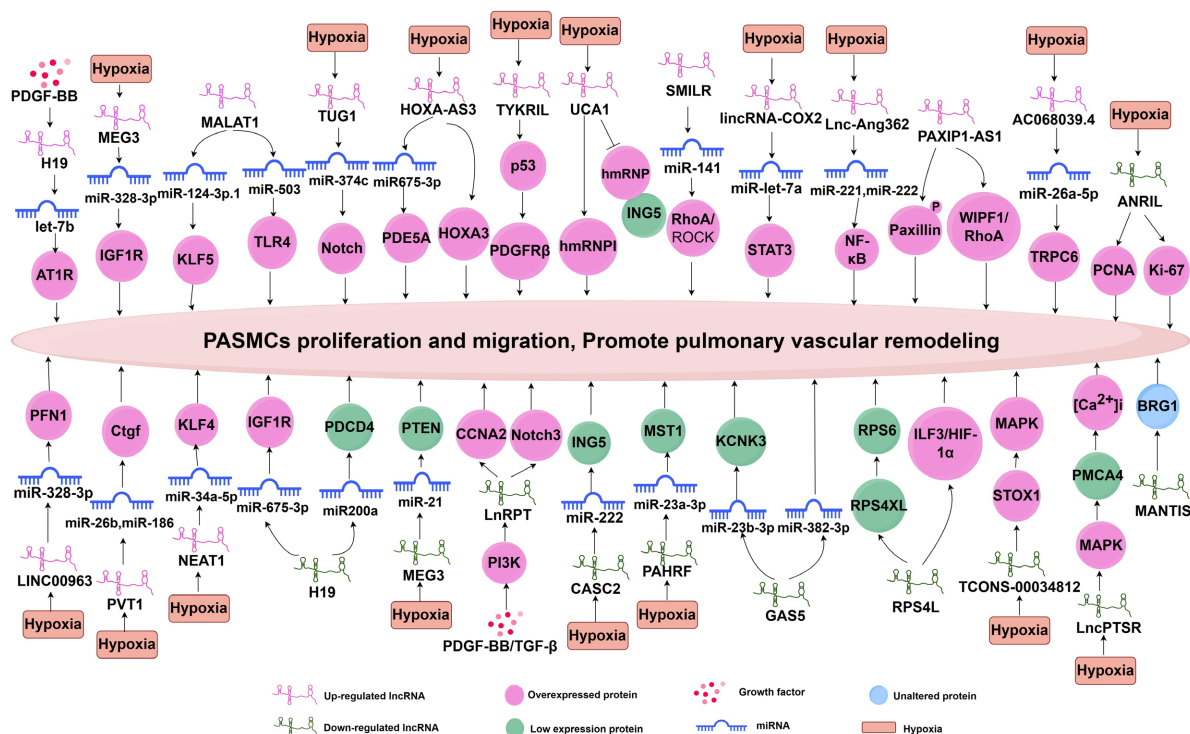


Figure 1. lncRNA involved in the development of pulmonary hypertension by regulating PASCs and promoting pulmonary vascular remodeling (drawn by Figdraw)

图 1. lncRNA 通过调节 PASCs 促进肺血管重构参与肺动脉高压的发生发展本图由 Figdraw 绘制

也可直接作用于靶蛋白来发挥作用(见图 1), 还需深入挖掘其参与 PH 的机制。反义寡核苷酸、RNA 干扰药物和 CRISPR 基因组编辑工具通过改变 lncRNA 表达也可作为 PH 治疗的手段之一。鉴于 lncRNAs 在血液循环中表达稳定, 便于定量检测, 将来有望成为肺动脉高压诊断、治疗和预后较有潜力的生物标志物。

致 谢

在此特别感谢我的导师范晓航老师, 她严谨的治学态度和渊博的学识对我影响深远, 笔短情长, 师恩难忘!

基金项目

湖北省教育厅中青年人才项目(Q20182603); 湖北文理学院大学生创新创业训练计划项目(202110519007, X202110519015, X202310519068); 湖北文理学院博士科研启动经费资助项目(2059201)。

参考文献

- [1] Hassoun, P.M. (2021) Pulmonary Arterial Hypertension. *The New England Journal of Medicine*, **385**, 2361-2376. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2000348>
- [2] Ruopp, N.F. and Cockrill, B.A. (2022) Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension: A Review. *JAMA*, **327**, 1379-1391. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.4402>
- [3] Han, B., Bu, P., Meng, X., et al. (2017) Microarray Profiling of Long Non-Coding RNAs Associated with Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **13**, 2657-2666. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4355>
- [4] Okazaki, Y., Furuno, M., Kasukawa, T., et al. (2002) Analysis of the Mouse Transcriptome Based on Functional Annotation of 60,770 Full-Length cDNAs. *Nature*, **420**, 563-73. <https://doi.org/10.1038/nature01266>
- [5] Mattick, J.S. and Makunin, I.V. (2006) Non-Coding RNA. *Human Molecular Genetics*, **15**, R17-R29. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl046>
- [6] Han, Y., Ali, M.K., Dua, K., et al. (2021) Role of Long Non-Coding RNAs in Pulmonary Arterial Hypertension. *Cell*, **10**, Article No. 1892. <https://doi.org/10.3390/cells10081892>
- [7] Mercer, T.R., Dinger, M.E. and Mattick, J.S. (2009) Long Non-Coding RNAs: Insights into Functions. *Human Molecular Genetics*, **10**, 155-159. <https://doi.org/10.1038/nrg2521>
- [8] Beermann, J., Piccoli, M.T., Viereck, J., et al. (2016) Non-Coding RNAs in Development and Disease: Background, Mechanisms, and Therapeutic Approaches. *Physiological Reviews*, **96**, 1297-1325. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2015>
- [9] Sun, M., Nie, F., Wang, Y., et al. (2016) LncRNA HOXA11-AS Promotes Proliferation and Invasion of Gastric Cancer by Scaffolding the Chromatin Modification Factors PRC2, LSD1, and DNMT. *Cancer Research*, **76**, 6299-6310. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-0356>
- [10] Gasri-Plotnitsky, L., Ovadia, A., Shamalov, K., et al. (2017) A Novel lncRNA, GASL1, Inhibits Cell Proliferation and Restricts E2F1 Activity. *Oncotarget*, **8**, 23775-23786. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15864>
- [11] Peng, W.X., Koirala, P. and Mo, Y.Y. (2017) LncRNA-Mediated Regulation of Cell Signaling in Cancer. *Oncogene*, **36**, 5661-5667. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.184>
- [12] Leeper, N.J. and Maegdefessel, L. (2018) Non-Coding RNAs: Key Regulators of Smooth Muscle Cell Fate in Vascular Disease. *Cardiovascular Research*, **114**, 611-621. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx249>
- [13] Haemmig, S., Simion, V. and Feinberg, M.W. (2018) Long Non-Coding RNAs in Vascular Inflammation. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, **5**, Article No. 22. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00022>
- [14] Leimena, C. and Qiu, H. (2018) Non-Coding RNA in the Pathogenesis, Progression and Treatment of Hypertension. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**, Article No. 927. <https://doi.org/10.3390/ijms19040927>
- [15] Chi, Y., Wang, D., Wang, J., et al. (2019) Long Non-Coding RNA in the Pathogenesis of Cancers. *Cells*, **8**, Article No. 1015. <https://doi.org/10.3390/cells8091015>
- [16] Simion, V., Haemmig, S. and Feinberg, M.W. (2019) LncRNAs in Vascular Biology and Disease. *Vascular Pharmacology*, **114**, 145-156. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2018.01.003>

- [17] Wolowiec, L., Medlewska, M., Osiak, J., *et al.* (2023) MicroRNA and lncRNA as the Future of Pulmonary Arterial Hypertension Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article No. 9735. <https://doi.org/10.3390/ijms24119735>
- [18] WKovacs, G., Dumitrescu, D., Barner, A., *et al.* (2018) Definition, Clinical Classification and Initial Diagnosis of Pulmonary Hypertension: Updated Recommendations from the Cologne Consensus Conference 2018. *International Journal of Cardiology*, **272S**, 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.08.083>
- [19] Vaillancourt, M., Ruffenach, G., Meloche, J., *et al.* (2015) Adaptation and Remodelling of the Pulmonary Circulation in Pulmonary Hypertension. *Canadian Journal of Cardiology*, **31**, 407-415. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2014.10.023>
- [20] Sommer, N., Ghofrani, H.A., Pak, O., *et al.* (2021) Current and Future Treatments of Pulmonary Arterial Hypertension. *British Journal of Pharmacology*, **178**, 6-30. <https://doi.org/10.1111/bph.15016>
- [21] Leopold, J.A. and Maron, B.A. (2016) Molecular Mechanisms of Pulmonary Vascular Remodeling in Pulmonary Arterial Hypertension. *International Journal of Molecular Sciences*, **17**, Article No. 761. <https://doi.org/10.3390/ijms17050761>
- [22] Price, L.C., Wort, S.J., Perros, F., *et al.* (2012) Inflammation in Pulmonary Arterial Hypertension. *Chest*, **141**, 210-221. <https://doi.org/10.1378/chest.11-0793>
- [23] Nogueira-Ferreira, R., Vitorino, R., Ferreira, R., *et al.* (2015) Exploring the Monocrotaline Animal Model for the Study of Pulmonary Arterial Hypertension: A Network Approach. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, **35**, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2015.09.007>
- [24] Rieg, A.D., Suleiman, S., Anker, C., *et al.* (2018) PDGF-BB Regulates the Pulmonary Vascular Tone: Impact of Prostaglandins, Calcium, MAPK- and PI3K/AKT/mTOR Signalling and Actin Polymerisation in Pulmonary Veins of Guinea Pigs. *Respiratory Research*, **19**, Article No. 120. <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0829-5>
- [25] Qian, Z., Li, Y., Chen, J., *et al.* (2017) miR-4632 Mediates PDGF-BB-Induced Proliferation and Antiapoptosis of Human Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells via Targeting cJUN. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **313**, C380-C391. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00061.2017>
- [26] Tan, W.S.D., Liao, W., Zhou, S., *et al.* (2018) Targeting the Renin-Angiotensin System as Novel Therapeutic Strategy for Pulmonary Diseases. *Current Opinion in Pharmacology*, **40**, 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2017.12.002>
- [27] Viswanathan, G., Mamazhakypov, A., Schermuly, R.T., *et al.* (2018) The Role of G Protein-Coupled Receptors in the Right Ventricle in Pulmonary Hypertension. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, **5**, Article No. 179. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00179>
- [28] De Man, F.S., Tu, L., Handoko, M.L., *et al.* (2012) Dysregulated Renin-Angiotensin-Aldosterone System Contributes to Pulmonary Arterial Hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **186**, 780-790. <https://doi.org/10.1164/rccm.201203-0411OC>
- [29] Gupta, V.S. and Harting, M.T. (2020) Congenital Diaphragmatic Hernia-Associated Pulmonary Hypertension. *Seminars in Perinatology*, **44**, Article ID: 151167. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2019.07.006>
- [30] Longoni, M., Russell, M.K., High, F.A., *et al.* (2015) Prevalence and Penetrance of ZFPM2 Mutations and Deletions Causing Congenital Diaphragmatic Hernia. *Clinical Genetics*, **87**, 362-367. <https://doi.org/10.1111/cge.12395>
- [31] McCulley, D.J., Wienhold, M.D., Hines, E.A., *et al.* (2018) PBX Transcription Factors Drive Pulmonary Vascular Adaptation to Birth. *Journal of Clinical Investigation*, **128**, 655-667. <https://doi.org/10.1172/JCI93395>
- [32] Cao, Y., Yang, Y., Wang, L., *et al.* (2018) Analyses of Long Non-Coding RNA and mRNA Profiles in Right Ventricle Myocardium of Acute Right Heart Failure in Pulmonary Arterial Hypertension Rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **106**, 1108-1115. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.057>
- [33] Zahid, K.R., Raza, U., Chen, J., *et al.* (2020) Pathobiology of Pulmonary Artery Hypertension: Role of Long Non-Coding RNAs. *Cardiovascular Research*, **116**, 1937-1947. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa050>
- [34] Awad, K.S., West, J.D., de Jesus Perez, V., *et al.* (2016) Novel Signaling Pathways in Pulmonary Arterial Hypertension (2015 Grover Conference Series). *Pulmonary Circulation*, **6**, 285-294. <https://doi.org/10.1086/688034>
- [35] Wilson, J.L., Yu, J., Taylor, L., *et al.* (2015) Hyperplastic Growth of Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells from Subjects with Pulmonary Arterial Hypertension Is Activated through JNK and p38 MAPK. *PLOS ONE*, **14**, e0123662. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123662>
- [36] Wang, J., Feng, W., Li, F., *et al.* (2019) SphK1/S1P Mediates TGF- β 1-Induced Proliferation of Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells and Its Potential Mechanisms. *Pulmonary Circulation*, **9**, 1-8. <https://doi.org/10.1177/2045894018816977>
- [37] Wang, D., Xu, H., Wu, B., *et al.* (2019) Long Non-Coding RNA MALAT1 Sponges miR-124-3p.1/KLF5 to Promote Pulmonary Vascular Remodeling and Cell Cycle Progression of Pulmonary Artery Hypertension. *International Journal of Molecular Medicine*, **44**, 871-884. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4256>

- [38] Chen, J., Guo, J., Cui, X., *et al.* (2018) The Long Noncoding RNA LncRPT Is Regulated by PDGF-BB and Modulates the Proliferation of Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **58**, 181-193. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2017-0111OC>
- [39] Juan, V., Crain, C. and Wilson, C. (2000) Evidence for Evolutionarily Conserved Secondary Structure in the H19 Tumor Suppressor RNA. *Nucleic Acids Research*, **28**, 1221-1227. <https://doi.org/10.1093/nar/28.5.1221>
- [40] Cai, X. and Cullen, B.R. (2007) The Imprinted H19 Noncoding RNA Is a Primary microRNA Precursor. *RNA*, **13**, 313-316. <https://doi.org/10.1261/rna.351707>
- [41] Huang, S.F., Zhao, G., Peng, X.F., *et al.* (2021) The Pathogenic Role of Long Non-Coding RNA H19 in Atherosclerosis via the miR-146a-5p/ANGPTL4 Pathway. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, **8**, Article ID: 770163. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.770163>
- [42] Pan, J.X. (2017) LncRNA H19 Promotes Atherosclerosis by Regulating MAPK and NF- κ B Signaling Pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **21**, 322-328.
- [43] Kallen, A.N., Zhou, X.B., Xu, J., *et al.* (2013) The Imprinted H19 lncRNA Antagonizes let-7 microRNAs. *Molecular Cell*, **52**, 101-112. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.08.027>
- [44] Su, H., Xu, X., Yan, C., *et al.* (2018) LncRNA H19 Promotes the Proliferation of Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells through AT1R via Sponging let-7b in Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension. *Respiratory Research*, **19**, Article No. 254. <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0956-z>
- [45] Wang, R., Zhou, S., Wu, P., *et al.* (2018) Identifying Involvement of H19-miR-675-3p-IGF1R and H19-miR-200a-PDCD4 in Treating Pulmonary Hypertension with Melatonin. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, **13**, 44-54. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.08.015>
- [46] Omura, J., Habbout, K., Shimauchi, T., *et al.* (2020) Identification of Long Noncoding RNA H19 as a New Biomarker and Therapeutic Target in Right Ventricular Failure in Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation*, **142**, 1464-1484. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047626>
- [47] Yang, L., Liang, H., Shen, L., *et al.* (2019) LncRNA Tug1 Involves in the Pulmonary Vascular Remodeling in Mice with Hypoxic Pulmonary Hypertension via the microRNA-374c-Mediated Foxc1. *Life Sciences*, **237**, Article ID: 116769. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116769>
- [48] Zhang, H., Liu, Y., Yan, L., *et al.* (2019) Long Noncoding RNA Hoxaas3 Contributes to Hypoxia-Induced Pulmonary Artery Smooth Muscle Cell Proliferation. *Cardiovascular Research*, **115**, 647-657. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy250>
- [49] Sun, Z., Nie, X., Sun, S., *et al.* (2017) Long Non-Coding RNA MEG3 Downregulation Triggers Human Pulmonary Artery Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration via the p53 Signaling Pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **42**, 2569-2581. <https://doi.org/10.1159/000480218>
- [50] Zhu, B., Gong, Y., Yan, G., *et al.* (2018) Down-Regulation of lncRNA MEG3 Promotes Hypoxia-Induced Human Pulmonary Artery Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration via Repressing PTEN by Sponging miR-21. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **495**, 2125-2132. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.185>
- [51] Xing, Y., Zheng, X., Fu, Y., *et al.* (2019) Long Noncoding RNA-Maternally Expressed Gene 3 Contributes to Hypoxic Pulmonary Hypertension. *Molecular Therapy*, **27**, 2166-2181. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.07.022>
- [52] Zhang, X., Hamblin, M.H. and Yin, K.J. (2017) The Long Noncoding RNA Malat1: Its Physiological and Pathophysiological Functions. *RNA Biology*, **14**, 1705-1714. <https://doi.org/10.1080/15476286.2017.1358347>
- [53] Brock, M., Schuoler, C., Leuenberger, C., *et al.* (2017) Analysis of Hypoxia-Induced Noncoding RNAs Reveals Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1 as an Important Regulator of Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, **242**, 487-496. <https://doi.org/10.1177/1535370216685434>
- [54] Zhuo, Y., Zeng, Q., Zhang, P., *et al.* (2017) Functional Polymorphism of lncRNA MALAT1 Contributes to Pulmonary Arterial Hypertension Susceptibility in Chinese People. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, **55**, 38-46. <https://doi.org/10.1515/ccim-2016-0056>
- [55] He, M., Shen, J., Zhang, C., *et al.* (2020) Long-Chain Non-Coding RNA Metastasis-Related Lung Adenocarcinoma Transcript 1 (MALAT1) Promotes the Proliferation and Migration of Human Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells (hPASCs) by Regulating the MicroRNA-503 (miR-503)/Toll-Like Receptor 4 (TLR4) Signal Axis. *Medical Science Monitor*, **26**, e923123. <https://doi.org/10.12659/MSM.923123>
- [56] Zhou, H., Sun, L. and Wan, F. (2019) Molecular Mechanisms of TUG1 in the Proliferation, Apoptosis, Migration and Invasion of Cancer Cells. *Oncology Letters*, **18**, 4393-4402. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10848>
- [57] Wang, S., Cao, W., Gao, S., *et al.* (2019) TUG1 Regulates Pulmonary Arterial Smooth Muscle Cell Proliferation in Pulmonary Arterial Hypertension. *Canadian Journal of Cardiology*, **35**, 1534-1545. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2019.07.630>

- [58] Yao, Q., Wang, C., Wang, Y., *et al.* (2022) The Integrated Comprehension of lncRNA HOXA-AS3 Implication on Human Diseases. *Clinical and Translational Oncology*, **24**, 2342-2350. <https://doi.org/10.1007/s12094-022-02920-w>
- [59] Li, Z.K., Gao, L.F., Zhu, X.A., *et al.* (2021) lncRNA HOXA-AS3 Promotes the Progression of Pulmonary Arterial Hypertension through Mediation of miR-675-3p/PDE5A Axis. *Biochemical Genetics*, **59**, 1158-1172. <https://doi.org/10.1007/s10528-021-10053-y>
- [60] Zehendner, C.M., Valasarajan, C., Werner, A., *et al.* (2020) Long Noncoding RNA TYKRIL Plays a Role in Pulmonary Hypertension via the p53-mediated Regulation of PDGFR β . *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **202**, 1445-1457. <https://doi.org/10.1164/rccm.201910-2041OC>
- [61] Wang, F., Li, X., Xie, X., *et al.* (2008) UCA1, a Non-Protein-Coding RNA Up-Regulated in Bladder Carcinoma and Embryo, Influencing Cell Growth and Promoting Invasion. *FEBS Letters*, **582**, 1919-1927. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.05.012>
- [62] He, A., Hu, R., Chen, Z., *et al.* (2017) Role of Long Noncoding RNA UCA1 as a Common Molecular Marker for Lymph Node Metastasis and Prognosis in Various Cancers: A Meta-Analysis. *Oncotarget*, **8**, 1937-1943. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12463>
- [63] Zhu, T.T., Sun, R.L., Yin, Y.L., *et al.* (2019) Long Noncoding RNA UCA1 Promotes the Proliferation of Hypoxic Human Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells. *Pflügers Archiv*, **471**, 347-355. <https://doi.org/10.1007/s00424-018-2219-8>
- [64] Lei, S., Peng, F., Li, M.L., *et al.* (2020) lncRNA-SMILR Modulates RhoA/ROCK Signaling by Targeting miR-141 to Regulate Vascular Remodeling in Pulmonary Arterial Hypertension. *The American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **319**, H377-H391. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00717.2019>
- [65] Ballantyne, M.D., Pinel, K., Dakin, R., *et al.* (2016) Smooth Muscle Enriched Long Noncoding RNA (SMILR) Regulates Cell Proliferation. *Circulation*, **133**, 2050-2065. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.021019>
- [66] Mahmoud, A.D., Ballantyne, M.D., Miscianinov, V., *et al.* (2019) The Human-Specific and Smooth Muscle Cell-Enriched lncRNA SMILR Promotes Proliferation by Regulating Mitotic CENPF mRNA and Drives Cell-Cycle Progression Which Can Be Targeted to Limit Vascular Remodeling. *Circulation Research*, **125**, 535-551. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.314876>
- [67] Carpenter, S., Aiello, D., Atianand, M.K., *et al.* (2013) A Long Noncoding RNA Mediates both Activation and Repression of Immune Response Genes. *Science*, **341**, 789-792. <https://doi.org/10.1126/science.1240925>
- [68] Xue, Z., Zhang, Z., Liu, H., *et al.* (2019) lincRNA-Cox2 Regulates NLRP3 Inflammasome and Autophagy Mediated Neuroinflammation. *Cell Death & Differentiation*, **26**, 130-145. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0105-8>
- [69] Cheng, G., He, L. and Zhang, Y. (2020) LincRNA-Cox2 Promotes Pulmonary Arterial Hypertension by Regulating the let-7a-Mediated STAT3 Signaling Pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **475**, 239-247. <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03877-6>
- [70] Leung, A., Trac, C., Jin, W., *et al.* (2013) Novel Long Noncoding RNAs Are Regulated by Angiotensin II in Vascular Smooth Muscle Cells. *Circulation Research*, **113**, 266-278. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.300849>
- [71] Nie, X., Chen, Y., Tan, J., *et al.* (2019) MicroRNA-221-3p Promotes Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells Proliferation by Targeting AXIN2 during Pulmonary Arterial Hypertension. *Vascular Pharmacology*, **116**, 24-35. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.07.002>
- [72] Wang, H., Qin, R. and Cheng, Y. (2020) lncRNA-Ang362 Promotes Pulmonary Arterial Hypertension by Regulating miR-221 and miR-222. *Shock*, **53**, 723-729. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001410>
- [73] Jandl, K., Thekkekara Puthenparampil, H., Marsh, L.M., *et al.* (2019) Long Non-Coding RNAs Influence the Transcriptome in Pulmonary Arterial Hypertension: The Role of PAXIP1-AS1. *The Journal of Pathology*, **247**, 357-370. <https://doi.org/10.1002/path.5195>
- [74] Song, R., Lei, S., Yang, S., *et al.* (2021) lncRNA PAXIP1-AS1 Fosters the Pathogenesis of Pulmonary Arterial Hypertension via ETS1/WIPF1/RhoA Axis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **25**, 7321-7334. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16761>
- [75] Qin, Y., Zhu, B., Li, L., *et al.* (2021) Overexpressed lncRNA AC068039.4 Contributes to Proliferation and Cell Cycle Progression of Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells via Sponging miR-26a-5p/TRPC6 in Hypoxic Pulmonary Arterial Hypertension. *Shock*, **55**, 244-255. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001606>
- [76] Wang, L., Han, S., Jin, G., *et al.* (2014) Linc00963: A Novel, Long Non-Coding RNA Involved in the Transition of Prostate Cancer from Androgen-Dependence to Androgen-Independence. *International Journal of Oncology*, **44**, 2041-2049. <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2363>
- [77] Xie, Z., Zhong, C., Shen, J., *et al.* (2022) LINC00963: A Potential Cancer Diagnostic and Therapeutic Target. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **150**, Article ID: 113019. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113019>

- [78] Yang, C., Rong, R., Li, Y., *et al.* (2022) Decrease in LINC00963 Attenuates the Progression of Pulmonary Arterial Hypertension via microRNA-328-3p/Profilin 1 Axis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **36**, e24383. <https://doi.org/10.1002/jcla.24383>
- [79] Huppi, K., Volfovsky, N., Runfola, T., *et al.* (2008) The Identification of microRNAs in a Genomically Unstable Region of Human Chromosome 8q24. *Molecular Cancer Research*, **6**, 212-221. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-07-0105>
- [80] Jin, K., Wang, S., Zhang, Y., *et al.* (2019) Long Non-Coding RNA PVT1 Interacts with MYC and Its Downstream Molecules to Synergistically Promote Tumorigenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **76**, 4275-4289. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03222-1>
- [81] Xia, X., Huang, L., Zhou, S., *et al.* (2023) Hypoxia-Induced Long Non-Coding RNA Plasmacytoma Variant Translocation 1 Upregulation Aggravates Pulmonary Arterial Smooth Muscle Cell Proliferation by Regulating Autophagy via miR-186/Srf/Ctgf and miR-26b/Ctgf Signaling Pathways. *International Journal of Cardiology*, **370**, 368-377. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2022.09.060>
- [82] Yu, X., Li, Z., Zheng, H., *et al.* (2017) NEAT1: A Novel Cancer-Related Long Non-Coding RNA. *Cell Proliferation*, **50**, e12329. <https://doi.org/10.1111/cpr.12329>
- [83] Dou, X., Ma, Y., Qin, Y., *et al.* (2021) NEAT1 Silencing Alleviates Pulmonary Arterial Smooth Muscle Cell Migration and Proliferation under Hypoxia through Regulation of miR-34a-5p/KLF4 *In Vitro*. *Molecular Medicine Reports*, **24**, Article No. 749. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12389>
- [84] Wu, Z.H., Zhou, J., Hu, G.H., *et al.* (2021) LncRNA CASC2 Inhibits Lung Adenocarcinoma Progression through Forming Feedback Loop with miR-21/p53 Axis. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, **37**, 675-685. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12386>
- [85] Gong, J., Chen, Z., Chen, Y., *et al.* (2019) Long Non-Coding RNA CASC2 Suppresses Pulmonary Artery Smooth Muscle Cell Proliferation and Phenotypic Switch in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension. *Respiratory Research*, **20**, Article No. 53. <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1018-x>
- [86] Han, Y., Liu, Y., Yang, C., *et al.* (2020) LncRNA CASC2 Inhibits Hypoxia-Induced Pulmonary Artery Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration by Regulating the miR-222/ING5 Axis. *Cell & Molecular Bio Letters*, **25**, Article No. 21. <https://doi.org/10.1186/s11658-020-00215-y>
- [87] Liu, Y., Hu, R., Zhu, J., *et al.* (2021) The lncRNA PAHRF Functions as a Competing Endogenous RNA to Regulate MST1 Expression by Sponging miR-23a-3p in Pulmonary Arterial Hypertension. *Vascular Pharmacology*, **139**, Article ID: 106886. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2021.106886>
- [88] Kino, T., Hurt, D.E., Ichijo, T., Nader, N. and Chrousos, G.P. (2010) Noncoding RNA gas5 Is a Growth Arrest and Starvation-Associated Repressor of the Glucocorticoid Receptor. *Science Signaling*, **3**, ra8. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2000568>
- [89] Gao, Z.Q., Wang, J.F., Chen, D.H., *et al.* (2017) Long Non-Coding RNA GAS5 Suppresses Pancreatic Cancer Metastasis through Modulating miR-32-5p/PTEN Axis. *Cell & Bioscience*, **7**, Article No. 66. <https://doi.org/10.1186/s13578-017-0192-0>
- [90] Li, Y., Gu, J. and Lu, H. (2017) The GAS5/miR-222 Axis Regulates Proliferation of Gastric Cancer Cells through the PTEN/Akt/mTOR Pathway. *Digestive Diseases and Sciences*, **62**, 3426-3437. <https://doi.org/10.1007/s10620-017-4831-4>
- [91] Tang, R., Zhang, G., Wang, Y.C., *et al.* (2017) The Long Non-Coding RNA GAS5 Regulates Transforming Growth Factor β (TGF- β)-Induced Smooth Muscle Cell Differentiation via RNA Smad-Binding Elements. *Journal of Biological Chemistry*, **292**, 14270-14278. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.790030>
- [92] Hao, X., Li, H., Zhang, P., *et al.* (2020) Down-Regulation of lncRNA Gas5 Promotes Hypoxia-Induced Pulmonary Arterial Smooth Muscle Cell Proliferation by Regulating KCNK3 Expression. *European Journal of Pharmacology*, **889**, Article ID: 173618. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173618>
- [93] Feng, X., Wang, K., Yang, T., *et al.* (2022) LncRNA-GAS5/miR-382-3p Axis Inhibits Pulmonary Artery Remodeling and Promotes Autophagy in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension. *Genes Genomics*, **44**, 395-404. <https://doi.org/10.1007/s13258-021-01202-z>
- [94] Liu, Y., Zhang, H., Li, Y., *et al.* (2020) Long Noncoding RNA Rps4l Mediates the Proliferation of Hypoxic Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells. *Hypertension*, **76**, 1124-1133. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14644>
- [95] Li, Y., Zhang, J., Sun, H., *et al.* (2021) lnc-Rps4l-Encoded Peptide RPS4XL Regulates RPS6 Phosphorylation and Inhibits the Proliferation of PASMCs Caused by Hypoxia. *Molecular Therapy*, **29**, 1411-1424. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.01.005>
- [96] Li, Y., Zhang, J., Sun, H., *et al.* (2022) RPS4XL Encoded by lnc-Rps4l Inhibits Hypoxia-Induced Pyroptosis by Binding HSC70 Glycosylation Site. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, **28**, 920-934.

- <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2022.05.033>
- [97] Liu, Y., Sun, Z., Zhu, J., *et al.* (2018) LncRNA-TCONS_00034812 in Cell Proliferation and Apoptosis of Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells and Its Mechanism. *Journal of Cellular Physiology*, **233**, 4801-4814. <https://doi.org/10.1002/jcp.26279>
- [98] Lin, D., Zhang, X., Zhang, C., *et al.* (2021) LncRNA-TCONS_00034812 Is Upregulated in Atherosclerosis and Upregulates miR-21 through Methylation in Vascular Smooth Muscle Cells. *Annals of Translational Medicine*, **9**, 1005. <https://doi.org/10.21037/atm-21-2632>
- [99] Pasmant, E., Laurendeau, I., Héron, D., *et al.* (2007) Characterization of a Germ-Line Deletion, Including the Entire INK4/ARF Locus, in a Melanoma-Neural System Tumor Family: Identification of ANRIL, an Antisense Noncoding RNA Whose Expression Coclusters with ARF. *Cancer Research*, **67**, 3963-3969. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2004>
- [100] Chen, L., Qu, H., Guo, M., *et al.* (2020) ANRIL and Atherosclerosis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, **45**, 240-248. <https://doi.org/10.1111/jcpt.13060>
- [101] Wang, S., Zhang, C. and Zhang, X. (2020) Downregulation of Long Non-Coding RNA ANRIL Promotes Proliferation and Migration in Hypoxic Human Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells. *Molecular Medicine Reports*, **21**, 589-596. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10887>
- [102] Deng, L., Chen, J., Chen, B., *et al.* (2022) LncPTSR Triggers Vascular Remodeling in Pulmonary Hypertension by Regulating $[Ca^{2+}]_i$ in Pulmonary Arterial Smooth Muscle Cells. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **66**, 524-538. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2020-0480OC>
- [103] Wu, G., Cai, J., Han, Y., *et al.* (2014) LincRNA-p21 Regulates Neointima Formation, Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation, Apoptosis, and Atherosclerosis by Enhancing p53 Activity. *Circulation*, **130**, 1452-1465. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.011675>
- [104] Wang, H., He, F., Liang, B., *et al.* (2021) p53-Dependent LincRNA-p21 Protects against Proliferation and Anti-Apoptosis of Vascular Smooth Muscle Cells in Atherosclerosis by Upregulating SIRT7 via MicroRNA-17-5p. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, **14**, 426-440. <https://doi.org/10.1007/s12265-020-10074-9>
- [105] Leisegang, M.S., Fork, C., Josipovic, I., *et al.* (2017) Long Noncoding RNA MANTIS Facilitates Endothelial Angiogenic Function. *Circulation*, **136**, 65-79. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.026991>
- [106] Wu, Q., Zhou, X., Wang, Y., *et al.* (2022) LncRNA GAS5 Promotes Spermidine-Induced Autophagy through the miRNA-31-5p/NAT8L Axis in Pulmonary Artery Endothelial Cells of Patients with CTEPH. *Molecular Medicine Reports*, **26**, Article No. 297. <https://doi.org/10.3892/mmr.2022.12813>
- [107] Gofrit, O.N., Benjamin, S., Halachmi, S., *et al.* (2014) DNA Based Therapy with Diphtheria Toxin-A BC-819: A Phase 2b Marker Lesion Trial in Patients with Intermediate Risk Nonmuscle Invasive Bladder Cancer. *Journal of Urology*, **191**, 1697-1702. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2013.12.011>
- [108] Smaldone, M.C. and Davies, B.J. (2010) BC-819, a Plasmid Comprising the H19 Gene Regulatory Sequences and Diphtheria Toxin A, for the Potential Targeted Therapy of Cancers. *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, **12**, 607-616.
- [109] Gomes, C.P.C., Spencer, H., Ford, K.L., *et al.* (2017) The Function and Therapeutic Potential of Long Non-Coding RNAs in Cardiovascular Development and Disease. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, **8**, 494-507. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2017.07.014>