

## • 基础研究 •

# 长链非编码 RNA 失调在脑动脉瘤发病机制中的潜在作用研究\*

薛军, 吕胜青, 周政, 牟科杰<sup>△</sup>

402760 重庆, 重庆市璧山区人民医院 神经外科 (薛军、牟科杰); 400037 重庆, 陆军军医大学新桥医院 神经外科 (吕胜青、周政)

**[摘要]** 目的: 通过分析动脉瘤中异常表达的 lncRNA, 探讨其在动脉瘤的发生发展中可能发挥的重要功能。方法: 检测 5 例颅内动脉瘤患者的动脉瘤组织与正常颅内动脉组织中的 lncRNA 表达谱和 mRNA 表达谱, 并探寻异常表达的 lncRNA 所靶向的 mRNA。结果: LncRNA 芯片分析结果显示, 与正常血管比较, 血管瘤组织中存在 1 533 种异常表达的 lncRNA, 其中 520 种 lncRNA 表达上调, 1 013 种 lncRNA 表达下调。274 种异常表达的 lncRNA 分别靶向于 188 种异常表达的 mRNA, 共形成了 434 对 lncRNA 和 mRNA 靶向关系。靶 mRNA 相关的信路分析显示, focal adhesion 信号通路可能发挥了至关重要的作用。对 lncRNA 基因与靶 mRNA 互作关系的网络分析显示, lncRNA n345160、XR\_171115.1、NR\_027671.2 和 ENSG00000261903.1 在动脉瘤发生中可能发挥了重要作用。结论: LncRNA 可能在颅内动脉瘤发生发展中发挥了重要作用。同时 lncRNA 与编码蛋白的 mRNA 之间可能存在复杂的相互作用, 这或许能为临床探索预防与治疗颅内动脉瘤的方法提供新的理论基础。

**[关键词]** 颅内动脉瘤; 蛛网膜下腔出血; 迟发性脑血管痉挛; 长链非编码 RNA

**[中图分类号]** R543.5; R651.1+2 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2020.07.002

引文格式: Xue J, Lv SQ, Zhou Z, et al. A potential role of long non-coding RNA dysregulation in pathogenesis of intracranial aneurysm [J]. J Cancer Control Treat, 2020, 33(7): 554-560. [薛军, 吕胜青, 周政, 等. 长链非编码 RNA 失调在脑动脉瘤发病机制中的潜在作用研究[J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(7): 554-560.]

## A Potential Role of Long Non-Coding RNA Dysregulation in Pathogenesis of Intracranial Aneurysm

Xue Jun, Lv Shengqing, Zhou Zheng, Mou Kejie

Department of Neurosurgery, The People's Hospital of Bi Shan District, Chongqing 402760, China (Xue Jun, Mou Kejie); Department of Neurosurgery, Xin Qiao Hospital, Army Medical University, Chongqing 400037, China (Lv Shengqing, Zhou Zheng)

**Corresponding author:** Mou Kejie, E-mail: moukejie@163.com

This study was supported by grants from Chongqing Health Commission (NO. 2017MSXM186).

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the abnormal expression of long non-coding RNA (lncRNA) in aneurysms, and explore its important function in the development of aneurysms. **Methods:** LncRNA and mRNA expression profiles in tissue samples of 5 intracranial aneurysms and a control artery were detected. The mRNA targeted by abnormally expressed lncRNA was found via target analysis. **Results:** There were 1,533 abnormally expressed lncRNAs in intracranial aneurysm tissue, among which 520 were up-regulated and 1,013 were down regulated. We also found that 188 abnormally expressed mRNA was targeted by 274 abnormally expressed lncRNAs, forming 434 relationships. The analysis of targeted mRNA-related pathways shows that focal adhesion might play an important role in the development of intracranial aneurysm. Protein-protein interaction

network analysis showed that lncrna n345160, xr.1, nr.2 and ensg00000261903.1 might also play an important role in the development of intracranial aneurysm. **Conclusion:** LncRNA may play an important role in the development of intracranial aneurysm. At the same time, there may be a com-

**[收稿日期]** 2020-04-29 **[修回日期]** 2020-06-24

**[基金项目]** \* 重庆市卫生健康委面上项目 (编号: 2017MSXM186)

**[通讯作者]** <sup>△</sup> 牟科杰, E-mail: moukejie@163.com

plex interaction between lncRNA and protein-encoding mRNAs, which provides a new theoretical basis for clinical exploration of the prevention and treatment of intracranial aneurysm.

[Key words] Intracranial aneurysm; Subarachnoid hemorrhage; Delayed cerebral vasospasm; Long non-coding RNA

颅内动脉瘤是临床上常见的神经系统疾病,是造成蛛网膜下腔出血的首要病因。蛛网膜下腔出血后迟发性脑血管痉挛(delayed cerebral vasospasm, DCVS)是动脉瘤破裂后最常见的严重并发症之一,常引起严重的脑组织缺血或迟发性缺血性脑损害。DCVS发病机制仍不十分清楚,也缺乏满意的预防和治疗方法<sup>[1]</sup>。这种伴随病理损伤的血管痉挛不同于生理性的血管收缩<sup>[2]</sup>,炎症及免疫反应起着非常重要的作用<sup>[3]</sup>。目前,血管壁炎症反应的启动,粒细胞在组织受损区域的黏附、穿透和迁移等机制仍存在不少争论。既往的研究多集中于血凝块降解产物及血管释放物对血管壁的影响方面<sup>[4]</sup>,而对于动脉瘤壁及血管壁本身的稳定性以及出血后血管反应性方面研究较少。既往认为,蛛网膜下腔及脑内积血量越多,其释放的缩血管痉挛物质越多,DCVS程度也越重<sup>[5]</sup>。但在实际临床中,我们发现出血量与DCVS程度呈非平行性者并非少见。

哺乳动物基因组约有 90% 的 DNA 能转录为 RNA,而只有约 10% 的 RNA 能翻译为蛋白质,其余均为非编码 RNA<sup>[6-7]</sup>。非编码 RNA 缺乏编码蛋白质的能力,但却能在细胞中发挥结构性和功能性的作用<sup>[8-9]</sup>。非编码 RNA 可被分为两个主要类型:一类是小非编码 RNA,包括微 RNA(microRNA)及其他长度不超过 200 核苷酸(nt)的非编码 RNA;另一类是长度大于 200nt 的 lncRNA。根据相对于邻近基因的方向和位置,又可进一步将 lncRNA 分为正义 lncRNA(sense lncRNA)、反义 lncRNA(antisense lncRNA)、基因内 lncRNA(intronic lncRNA)、基因间 lncRNA(intergenic lncRNA)、双向 lncRNA(bidirectional lncRNA)<sup>[10]</sup>。尽管大多数 lncRNA 的功能有待深入探索,但目前已有的报道显示,lncRNA 在表观遗传,转录水平和转录后水平等多个层面发挥重要功能,包括调节 mRNA 降解<sup>[11]</sup>,参与构成核内亚结构<sup>[12-13]</sup>,作为 miRNAs 的宿主基因或者作为 microRNA 海绵<sup>[14-15]</sup>,以及调节染色质重构<sup>[16-17]</sup>。近年来,尽管有对动脉瘤患者外周血的基因芯片分析,但针对动脉瘤组织所做的基因芯片分析尚未见报道。因此,我们采集 5 例颅内动脉瘤标本,首次应用芯片技术对人动脉瘤组织和人正常脑动脉组织中的 lncRNAs 和 mRNAs 进行基因表达的差异分析,应用生物信息学技术找到异常表达的 lncRNA 所靶向的

mRNA。为了使预测的结果更准确,再应用生物信息学方法对筛选出的异常表达的靶 mRNAs 进行功能分析和信号通路分析。通过以上分析,找到异常表达的 lncRNAs 和 mRNAs 之间可能的关系以及哪些 lncRNA 能在动脉瘤的发病中起到关键作用,以求从基因水平寻找脑动脉管壁稳定性的可能相关因素,寻找蛛网膜下腔出血后脑血管的血管反应性遗传学基础,为预防颅内动脉瘤的破裂及降低破裂后 DCVS 危害探求新的方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品的准备与 RNA 提取

动脉瘤标本于液氮中迅速冰冻,于 -80℃ 保存备用。1 例正常大脑中动脉取自一例因外伤后右侧额颞顶叶软化,右侧大脑半球广泛异常放电的药物难治性癫痫行大脑半球切除术患者,标本按上述方法做相同处理,作为对照。采用 TRIZOL Reagent (Cat#15596-018, Life technologies, Carlsbad, CA, US) 并且根据生产厂商提供的标准操作流程进行样品的 total RNA 抽提,抽提所得 total RNA 经 Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 电泳质检后使用 RNeasy mini kit (Cat#74106, QIAGEN, GmbH, Germany) 和 RNase-Free DNase Set (Cat#79254, QIAGEN, GmbH, Germany), 纯化 total RNA。

### 1.2 LncRNA 和 mRNA 芯片

选用 Agilent Human lncRNA 4 × 180K 芯片,覆盖目前所有权威数据库:NCBI、UCSC、LNCipedia、Noncoder、GENCODE 等多个数据库的 lncRNA。该 lncRNA 芯片设计探针为 60mer 的长寡核苷酸,这些长寡核苷酸探针在严格杂交条件下可得到高灵敏度及高特异性的理想实验结果。针对每条序列都设计了多条探针,增加了信号的可靠度。

### 1.3 RNA 的放大标记和芯片杂交

采用试剂盒 Low Input Quick Amp Labeling Kit, One-Color (Cat#5190-2305, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 和标准操作流程对样品 total RNA 中的 mRNA 进行放大和标记,并用 RNeasy mini kit (Cat#74106, QIAGEN, GmbH, Germany) 纯化标记后的 cRNA。按照 Agilent 表达谱芯片配套提供的杂交标准流程和配套试剂盒 Gene Expression Hybridiza-

tion Kit (Cat #5188-5242, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 说明, 在滚动杂交炉 Hybridization Oven (Cat #G2545A, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 中 65°C, 10 rpm, 滚动杂交 17 小时, 杂交 cRNA 上样量 1.65 μg, 并在洗缸 staining dishes (Cat #121, Thermo Shandon, Waltham, MA, US) 中洗片, 洗片所用的试剂为 Gene Expression Wash Buffer Kit (Cat #5188-5327, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)。

### 1.4 芯片扫描和数据分析

完成杂交的芯片采用 Agilent Microarray Scanner (Cat # G2565CA, Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 进行扫描, 软件设置 Dye channel: Green, Scan resolution = 3 μm, 20 bit。用 Feature Extraction software 10.7 (Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 读取数据, 最后采用 Gene Spring Software 11.0 (Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 进行归一化处理, 所用的算法为 Quantile。差异表达的 lncRNAs 和 mRNAs 通过差异倍数来确认。

### 1.5 lncRNA 靶标预测

通过顺式和反式作用的原理确定 lncRNA 作用的靶点。采用两种方法对差异表达的 lncRNA 进行靶点预测。第一种计算方法是应用 UCSC (<http://genome.ucsc.edu/>) genome browser, 找到顺式位点的靶基因, 即在该基因 10 kbp 范围内的。第二个计算方法是基于 mRNA 序列互补配对和 RNA duplex 能量预测。应用 BLAST 工具和 RNAplex 软件找到反式激活的靶基因。在预测到的 lncRNA 的靶 mRNA 中找到异常表达的 mRNA。基于 lncRNA 靶位点的预测, 构建 lncRNA-mRNA 调控网络。

### 1.6 基因功能和信号通路分析

应用 Gene Ontology 对预测的靶基因进行基因的功能注释和分析。并应用 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 数据库 (<http://www.genome.ad.jp/kegg/>) 对靶基因参与的信号通路进行分析。

### 1.7 统计学分析

两组之间的比较用 Student's *t*-test 方法,  $P < 0.05$  被认为差异有显著性。用错误发现率校正  $P$  值。用于分析 lncRNAs 和 mRNAs 差异基因表达的阈值为: 差异倍数  $\geq 4.0$  or  $\leq 0.25$  ( $P < 0.01$ )。

## 2 结果

### 2.1 在动脉瘤中异常表达的 lncRNA 和 mRNA

为了研究哪些 lncRNAs 在动脉瘤的发病中发挥了重要的生物学功能, 采用基因芯片对动脉瘤组织和对照组中的 lncRNA 表达谱和 mRNA 表达谱进行分析 (图 1)。Agilent Human lncRNA 4 × 180K 芯片共包含有 63 431 个 lncRNA, 39 887 个 mRNA。对芯片结果分析发现, 共有 1 533 个异常表达的 lncRNA 和 2 048 个异常表达的 mRNA。其中表达上调的 lncRNA 有 520 个, 表达下调的 lncRNA 有 1 013 个。表达上调的 mRNA 有 709 个, 表达下调的 mRNA 有 1 339 个 (差异倍数  $\geq 4.0$  or  $\leq 0.25$ ,  $P < 0.01$ )。

### 2.2 预测 lncRNA 的靶基因并筛选异常表达的靶基因

通过 lncRNA 预测软件找到表达异常的 lncRNA 所靶向的 mRNA, 再将其中异常表达的靶 mRNA 筛选出来, 最终找到有 434 对靶向关联 lncRNA 和 mRNA 均呈异常表达。其中, 在此靶向关联的 lncRNA 和 mRNA 中, 有 274 个 lncRNA 和 188 个 mRNA。

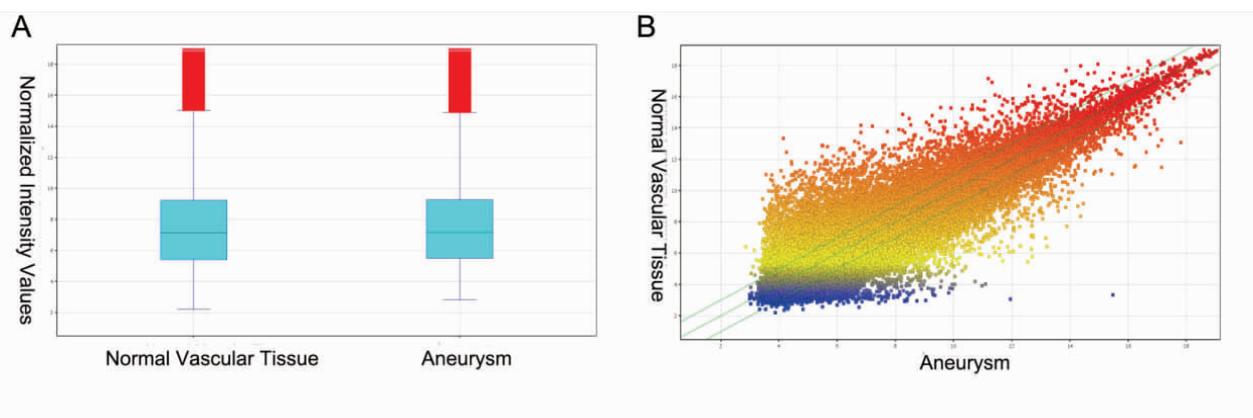


图 1 整张芯片信号值分布情况和数据相关性的箱线图与散点图

Figure 1. Analysis of lncRNA and mRNA Expression Profiles Tested by Gene Chips

### 2.3 生物信息学分析出 lncRNA 参与的信号通路

通过富集 GO 分析发现,异常表达 lncRNA 所靶向的异常表达的 mRNA 主要行使跨膜转运功能(图 2、表 1)。对靶 mRNA 进行信号通路分析发现,靶 mRNA 与 3 条信号通路有关,其中参与最多的信号通路是局部粘附(focal adhesion)(表 2)。

表 1 通过 GO 进行的靶基因的分类

Table 1. Classification of Target Genes by Gene Ontology

GO_term	Percent	N	P
<b>Biological process</b>			
Transmembrane transport	16.20%	21	0.006
Blood coagulation	15.40%	20	0.016
Small GTPase mediated signal transduction	10.80%	14	0.040
Phospholipid metabolic process	10%	13	0.004
Inflammatory response	10%	13	0.028
Platelet activation	8.50%	11	0.014
Extracellular matrix organization	8.50%	11	0.001
Calcium ion transport	6.90%	9	<0.001
GTP catabolic process	6.90%	9	0.002
Visual perception	6.90%	9	0.035
<b>Cellular component</b>			
Nucleus	22.90%	69	0.013
Extracellular region	16.95%	51	0.023
Integral to plasma membrane	12.30%	37	0.029
Cytosol	12.00%	36	0.023
Extracellular space	11.00%	33	0.008
Integral to membrane	9.30%	28	0.037
Cell surface	5.00%	15	0.018
Proteinaceous extracellular matrix	3.70%	11	<0.001
Apical plasma membrane	3.70%	11	0.025
Endoplasmic reticulum lumen	3.30%	10	0.007
<b>Molecular function</b>			
Metal ion binding	18.90%	36	0.020
Zinc ion binding	17.90%	34	0.007
DNA binding	14.20%	27	0.023
GTP binding	9.50%	18	0.007
Actin binding	9.50%	18	<0.001
GTPase activity	7.37%	14	0.002
Integrin binding	6.30%	12	<0.001
Receptor activity	5.80%	11	0.020
Iron ion binding	5.30%	10	0.004
Growth factor activity	5.30%	10	0.007

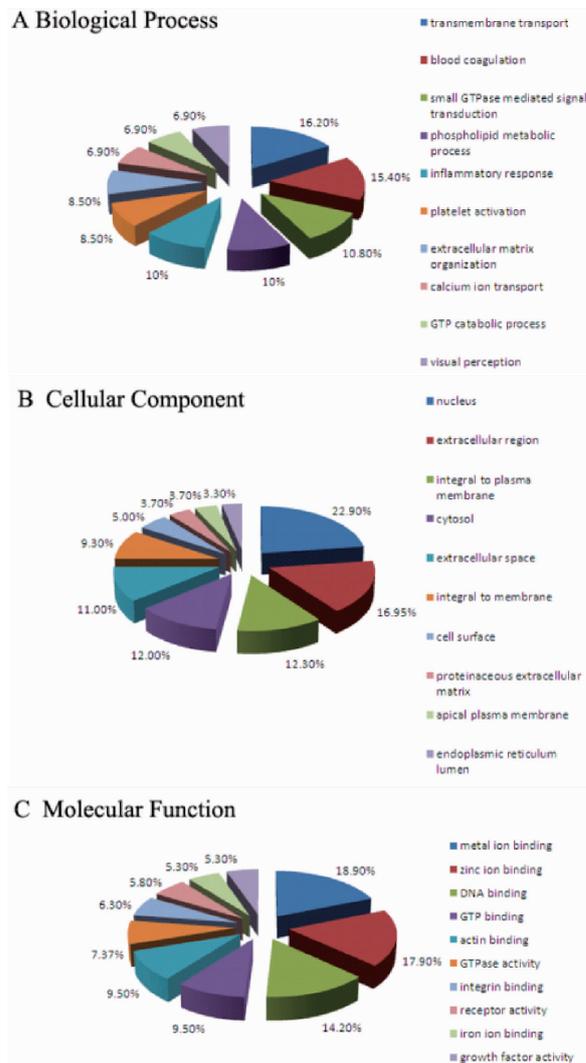


图 2 对 lncRNA 的靶基因进行 Gene ontology (GO) 富集分析后的结果

Figure 2. Results of Gene Ontology Enrichment Analysis of Target Genes of LncRNAs

### 2.4 构建 lncRNA 与 mRNA 相互作用的关系图

应用统计学的方法,我们构建了异常表达的 lncRNA 与其靶 mRNA 相互作用的关系网络图。结果发现,7 个 mRNA (*MRPL10*、*OSTC*、*PODXL*、*CREM*、*HSD11B1L*、*CC2D2A* 和 *JAM2*) 位于中心位置,可被多个 lncRNA 靶向,其中, *MRPL10* 可以被 54 个 lncRNA 靶向, *JAM2* 可以被 38 个 lncRNA 靶向, *OSTC* 可以被 33 个 lncRNA 靶向, *PODXL* 可以被 29 个 lncRNA 靶向, *HSD11B1L* 可以被 18 个 lncRNA 靶向, *CREM* 可以被 14 个 lncRNA 靶向, *CC2D2A* 可以被 12 个 lncRNA 靶向。同时发现,一个 lncRNA 可以由多个靶 mRNA, 最突出的是, n345160 可以靶向 7 个 mRNA, XR\_171115.1 和 NR\_027671.2 可以靶向 6 个 mRNA, ENSG00000261903.1 可以靶向 5 个 mRNA,

NA。有趣的是,这 4 个 lncRNA 都靶向了 *MRPL10*、*OSTC*、*PODXL* 和 *CREM*,其中有 3 个 lncRNA 都靶向了 *HSD11B1L* 和 *JAM2*(图 3)。

表 2 靶基因相关信号通路

Table 2. Target Gene-Related Signaling Pathways

KEGG_name	N	P	Gene
Focal adhesion	20	<0.001	<i>PARVG</i> , <i>COL3A1</i> , <i>RAP1A</i> , <i>MYL9</i> , <i>CCND2</i> , <i>LAMB1</i> , <i>COL4A4</i> , <i>MYLK</i> , <i>FIGF</i> , <i>COL5A1</i> , <i>THBS3</i> , <i>ITGB8</i> , <i>VEGFA</i> , <i>SHC3</i> , <i>ITGA1</i> , <i>LAMA5</i> , <i>COL1A2</i> , <i>LAMC1</i> , <i>MYL5</i> , <i>ARHGAP5</i>
ECM-receptor interaction	10	<0.001	<i>COL3A1</i> , <i>LAMB1</i> , <i>COL4A4</i> , <i>COL5A1</i> , <i>THBS3</i> , <i>ITGB8</i> , <i>ITGA1</i> , <i>LAMA5</i> , <i>COL1A2</i> , <i>LAMC1</i>
Olfactory transduction	1	<0.001	<i>PDE1C</i>

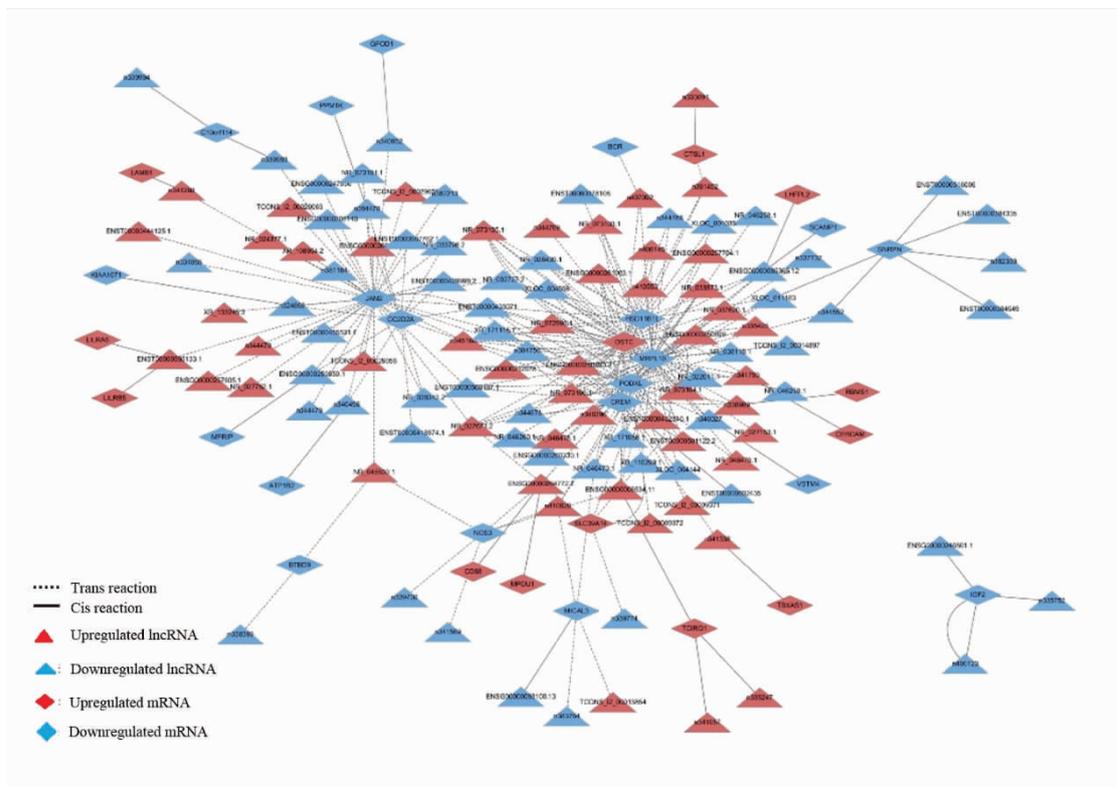


图 3 相关联的异常表达的 lncRNA 和异常表达的 mRNA 互作网络图

Figure 3. Protein-Protein Interaction Network of Abnormally Expressed LncRNA and mRNA

### 3 讨论

颅内动脉瘤发生及破裂的因素繁多,目前认为,脑血管壁局部的先天性缺陷和腔内压力增高是其发生的基础。动脉壁局部囊性膨出,膨出越大,其破裂出血的风险越高。但在实际临床中,我们不难发现,部分小型甚至微型动脉瘤即发生破裂,而大型甚至特大型动脉瘤反而未破裂。因此,我们推测其是否与患者本身脑血管的血管壁稳定性有关,是否存在有基因水平的相关因素可能。

颅内动脉瘤破裂后患者死亡或致残的主要原因

是蛛网膜下腔出血后 DCVS。发生 DCVS 发病机制仍存在不少争论,目前认为,炎症及免疫反应是其发生的最重要的原因<sup>[3]</sup>。但血管壁炎症反应的启动,粒细胞在组织受损区域的黏附、穿透和迁移等机制仍不十分清楚。既往认为,蛛网膜下腔及脑内积血量越多,DCVS 程度也越重<sup>[5]</sup>。因此,多数学者就血凝块降解产物及血管释放物对血管壁的影响进行深入研究并获得可喜成果<sup>[4]</sup>。但我们在实际临床中发现,出血量与 DCVS 程度呈非平行关系者并非少见。因此,我们更有理由推测,动脉瘤壁及血管壁本身的稳定性以及出血后血管反应性或许参与影响了

动脉瘤的预后。

ENCODE 数据分析表明,人类基因组中含有 9 000 多种 lncRNAs<sup>[18]</sup>,虽然 lncRNA 不具有蛋白质编码的能力,但越来越多的实验结果提示,lncRNA 参与了哺乳动物细胞中许多重要且复杂的功能调控,包括对基因表达的遗传与表观遗传调控、基因表达的转录水平调控、细胞核亚结构的形成以及发育的调控、干细胞多能性和体细胞重编程的调控等<sup>[19-22]</sup>。本研究旨在通过对动脉瘤组织中 lncRNA 表达谱的分析找到在动脉瘤发病及发展中起重要的作用的 lncRNA。基因芯片的结果显示,在动脉瘤组织中,表达上调的基因有 520 个,下调的基因有 1 013 个(差异倍数 $\geq 4$  or  $\leq 0.25$ ,  $P < 0.01$ )。

lncRNAs 参与转录水平的调控,可分为顺式作用和反式作用<sup>[8]</sup>。顺式作用的 lncRNA 可以通过招募染色质调节蛋白来调控邻近基因的表达<sup>[23]</sup>。研究表明,Kcnq1ot1 可以结合并招募 H3K9-和 H3K27-特异的组蛋白甲基转移酶 G9a 和 PRC2,通过参与组蛋白甲基化修饰,改变染色质构象,调节基因表达<sup>[24]</sup>。HOTTIP 可结合接头蛋白 WDR5,介导 WDR5/MLL 复合物定位到 *HOXA* 基因区域上,使组蛋白 H3K4 发生三甲基化,从而诱导 *HOXA* 基因簇的表达。HOTTIP 时空特异性表达对于 *HOXA* 基因簇的精确调控具有十分重要的作用。其他的顺式调控的 lincRNAs 包括 ncRNA-a1-7 和 Mistral 等,都可能导致一些临近基因的低表达<sup>[25-26]</sup>。反式作用的 lncRNA 可以通过形成 RNA-DNA 异源双链核酸分子来发挥作用。*HOTAIR* 5' 端的 300 nt 可以与 PRC2 结合、抑制基因表达外,而 3' 端的 700 nt 还可以结合 LSD1、CoREST、REST 等蛋白质,介导组蛋白 H3K4 去甲基化,促进基因表达<sup>[27]</sup>。lincRNA-p21 在缺少 RNA 结合蛋白质 HuR 的情况下,细胞质中的 lincRNA-p21 更为稳定,并可以通过碱基互补原则,特异结合一些靶 mRNA 分子,使得这些 mRNA 从核糖体上脱落下来,从而抑制 mRNA 的翻译<sup>[28]</sup>。

本研究预测了异常表达的 lncRNA 的靶基因。为了使预测的结果更可靠,我们仅仅关注在预测的靶基因中表达有差异的靶基因。为了进一步了解 lncRNA 的可能的功能,我们运用 GO 和 KEGG 分析靶基因的功能和参与的信号通路。KEGG 分析显示靶 mRNA 主要参与的信号通路是 focal adhesion。通过 lncRNA 与 mRNA 互相作用关系图发现,*MRPL10*、*OSTC*、*PODXL*、*CREM*、*HSD11B1L*、*CC2D2A* 和 *JAM2* 均被多个 lncRNA 靶向,可能在动脉瘤的发病

中发挥重要作用。lncRNA n345160、XR\_171115.1、NR\_027671.2 和 ENSG00000261903.1 均有 5 个以上的靶基因,且这些靶基因均是位于互作图中心位置的靶基因,包括 *MRPL10*、*OSTC*、*PODXL*、*CREM*、*HSD11B1L*、*CC2D2A* 和 *JAM2*,因此,推测 lncRNA n345160、XR\_171115.1、NR\_027671.2 和 ENSG00000261903.1 可能在动脉瘤的病理进程中发挥重要功能。

本研究首次自动脉瘤组织提取并分析出动脉瘤中异常表达的 lncRNA。其中,发挥重要功能的 lncRNA 可能通过 focal adhesion 信号通路在动脉瘤的发生发展中发挥重要功能。而且,通过 lncRNA 与 mRNA 的互作图也发现,lncRNA n345160、XR\_171115.1、NR\_027671.2 和 ENSG00000261903.1 可能通过作用于靶基因 *MRPL10*、*OSTC*、*PODXL*、*CREM*、*HSD11B1L*、*CC2D2A* 和 *JAM2* 在动脉瘤的发生发展中发挥重要功能。但这一推测需要进一步的实验加以证实。在后续的实验,我们将进一步对其差异表达的 lncRNA 进行功能学研究,验证它们是否参与了动脉瘤的发生发展,以期对动脉瘤的发病机理提供新的理论依据。

**作者声明:**本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

**学术不端:**本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

**同行评议:**经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

**利益冲突:**所有作者均声明不存在利益冲突。

**文章版权:**本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

#### [参考文献]

- [1] Marbacher S, Neuschmelting V, Graupner T, et al. Prevention of delayed cerebral vasospasm by continuous intrathecal infusion of glyceroltrinitrate and nimodipine in the rabbit model in vivo [J]. Intensive Care Med, 2008, 34(5):932-938.
- [2] Aihara Y, Kasuya H, Onda H, et al. Quantitative analysis of gene expressions related to inflammation in canine spastic artery after subarachnoid hemorrhage [J]. Stroke, 2002 (32):212-217.
- [3] Dietrich HH, Dacey RG Jr. Molecular keys to the problems of cerebral vasospasm [J]. Neurosurgery, 2000, 46(3):517-530.
- [4] Zubkov AY, Rollins KS, Parent AD, et al. Mechanism of endo-

- thelin-1-induced contraction in rabbit basilar artery [J]. *Stroke*, 2000, 31(2):526-533.
- [5] Liu CH, Liang CC, Liu CJ, *et al.* Pegylated interferon alfa-2a monotherapy for hemodialysis patients with acute hepatitis C [J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 51(5):541-549.
- [6] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs [J]. *Cell*, 2009, 136(4):629-641.
- [7] Costa FF. Non-coding RNAs; Meet thy masters [J]. *BioEssays*, 2010, 32(7):599-608.
- [8] Mattick JS. The genetic signatures of noncoding RNAs [J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(4):e1000459.
- [9] Lipovich L, Johnson R, Lin CY. MacroRNA underdogs in a microRNA world: Evolutionary, regulatory, and biomedical significance of mammalian long non-protein-coding RNA [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(9):597-615.
- [10] Rinn JL, Chang HY. Genome regulation by long Noncoding RNAs [J]. *Ann Rev Biochem*, 2012, 81:145-166.
- [11] Gong C, Maquat LE. lncRNAs transactivate STAU1-mediated mRNA decay by duplexing with 3' UTRs via Alu elements [J]. *Nature*, 2011, 470(7333):284-288.
- [12] Clemson CM, Hutchinson JN, Sara SA, *et al.* An architectural role for a nuclear noncoding RNA: NEATI RNA is essential for the structure of paraspeckles [J]. *Mol Cell*, 2009, 33(6):717-726.
- [13] Shevtsov SP, Dundr M. Nucleation of nuclear bodies by RNA [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(2):167-173.
- [14] Mestdagh P, Bostrom AK, Impens F, *et al.* The miR-17-92 microRNA cluster regulates multiple components of the TGF-beta pathway in neuroblastoma [J]. *Mol Cell*, 2010, 40(5):762-773.
- [15] Zhou X, Gao Q, Wang J, *et al.* Linc-RNA-RoR acts as a "sponge" against mediation of the differentiation of endometrial cancer stem cells by microRNA-145 [J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 133(2):333-339.
- [16] Kanduri C. Kenq1ot1: A chromatin regulatory RNA [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22(4):343-350.
- [17] Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, *et al.* Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15 (INK4B) tumor suppressor gene [J]. *Oncogene*, 2011, 30(16):1956-1962.
- [18] Djebali S, Davis CA, Merkel A, *et al.* Landscape of transcription in human cells [J]. *Nature*, 2012, 489(7414):101-108.
- [19] Wang X, Arai S, Song X, *et al.* Induced ncRNAs allosterically modify RNA-binding proteins in cis to inhibit transcription [J]. *Nature*, 2008, 454(7200):126.
- [20] Chen LL, Carmichael GG. Altered nuclear retention of mRNAs containing inverted repeats in human embryonic stem cells: Functional role of a nuclear noncoding RNA [J]. *Mol Cell*, 2009, 35(4):467-478.
- [21] Ng SY, Johnson R, Stanton LW. Human long non-coding RNAs promote pluripotency and neuronal differentiation by association with chromatin modifiers and transcription factors [J]. *EMBO*, 2012, 31(3):522-533.
- [22] Loewer S, Cabili MN, Guttman M, *et al.* Large intergenic non-coding RNA-RoR modulates reprogramming of human induced pluripotent stem cells [J]. *Nat Genet*, 2010, 42(12):1113-1117.
- [23] Pauli A, Rinn JL, Schier AF. Non-coding RNAs as regulators of embryogenesis [J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(2):136-149.
- [24] Mancini-DiNardo D, Steele SJS, Levorse JM, *et al.* Elongation of the *Kenq1ot1* transcript is required for genomic imprinting of neighboring genes [J]. *Gene Dev*, 2006, 20(10):1268-1282.
- [25] Orom UA, Derrien T, Beringer M, *et al.* Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells [J]. *Cell*, 2010, 143(1):46-58.
- [26] Lai F, Orom UA, Cesaroni M, *et al.* Activating RNAs associate with Mediator to enhance chromatin architecture and transcription [J]. *Nature*, 2013, 494(7438):497-501.
- [27] Tsai MC, Manor O, Wan Y, *et al.* Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes [J]. *Science*, 2010, 329(5992):689-693.
- [28] Yoon J-H, Abdelmohsen K, Srikantan S, *et al.* LincRNA-p21 suppresses target mRNA translation [J]. *Mol Cell*, 2012, 47(4):648-655.