

# 长链非编码 RNA (lncRNA) 在心肌肥厚重塑过程中的表观遗传调控

谭志平<sup>1\*</sup>, 向莉<sup>1</sup>

(1. 齐齐哈尔医学院, 齐齐哈尔 中国)

**摘要:** 本研究聚焦于长链非编码 RNA 在心肌肥厚重塑过程中的表观遗传调控机制。通过整合高通量转录组测序、染色质可及性分析与功能扰动实验, 系统解析了多个差异表达 lncRNA 对组蛋白修饰动态、DNA 甲基化格局及染色质三维构象的协同影响。研究发现特定 lncRNA 可通过招募表观修饰复合物靶向调控肥大相关基因启动子区 H3K27ac 富集水平, 并显著改变增强子-启动子远程互作频率。进一步验证表明, 干预关键 lncRNA 表达可逆转病理性心肌细胞体积增大及收缩功能异常, 且该效应不依赖于经典信号通路激活。本工作为理解非编码基因组在心脏重塑中的主导性调控地位提供了实证基础。

**关键词:** 长链非编码 RNA; 心肌肥厚; 表观遗传调控; 染色质可及性; 三维基因组

## 1. 引言

### 1.1 心肌肥厚的病理本质与未解之困

心肌肥厚作为心力衰竭的关键前驱状态, 其临床进展不可预测且个体差异显著, 亟需从分子机制层面破解表型异质性与结构可逆性的内在逻辑 [1]。传统聚焦于蛋白编码基因的范式难以解释同一刺激下不同患者的心肌重塑轨迹分化, 亦无法阐明部分病理性肥厚在干预后呈现的动态逆转现象。现有研究普遍认为, 表观遗传调控网络的时空特异性激活可能构成重塑过程的核心驱动力。长链非编码 RNA 因其顺式/反式调控能力、亚细胞定位多样性及对染色质构象的精细干预潜力, 正被系统性地纳入心肌表观重塑的理论框架, 为突破当前病理认知瓶颈提供关键路径 [2]。

### 1.2 lncRNA: 表观调控网络的中枢节点

长链非编码 RNA 并非转录“噪音”, 而是染色质三维构象动态重编程的关键结构适配器。其多结构域设计赋予其同时锚定多个染色质位点、招募组蛋白修饰酶复合物及介导 RNA-染色质特异性互作的能力 [3]。相较于 miRNA 的单靶点抑制或 circRNA 的海绵效应, lncRNA 通过空间邻近性与序列互补性双重约束, 在亚核区室尺度上实现时序精确、靶点整合的表观遗传调控。这种结构-功能耦合范式使其成为心肌肥厚进程中染色质拓扑重构与转录命运决定的中枢协调节点。

### 1.3 本研究的科学定位与核心命题

本研究锚定心肌肥厚这一表观可塑性病理过程, 致力于解构 lncRNA 介导的层级化调控逻辑 [4]。区别于既往相关性关联分析, 我们提出并验证“lncRNA--表观景观--三维基因组--功能表型”因果链条, 将单个 lncRNA 定位为表观门控者-----其动态表达不仅重塑局部组蛋白修饰与 DNA 甲基化格局, 更驱动染色质拓扑结构重排, 最终决定肥大相关基因的时空转录输出。通过多维组学整合建模与反向功能回溯实验, 本工作旨在确立该因果链的充分性与必要性边界, 突破描述性范式桎梏 [5]。

## 2. 文献综述

## 2.1 心肌肥厚中已知表观遗传扰动图谱

心肌肥厚进程中已识别的表观遗传扰动呈现多层次协同特征：组蛋白 H3K27ac 与 H3K4me3 富集异常广泛分布于促肥厚基因启动子区，而 H3K9me3 及 H3K27me3 则在抑肥厚位点发生病理性沉积；DNA 羟甲基化（5hmC）水平在关键调控基因体区显著降低，伴随 TET 家族酶活性下调；CTCF 结合强度减弱导致多个拓扑关联域边界模糊化，引发增强子-启动子错配。然而，现有研究普遍认为上述改变多为转录重编程的继发性效应，而非初始驱动事件 [6]。

## 2.2 lncRNA 在心血管系统中的功能证据层级

现有研究普遍将 lncRNA 表达变化与心肌肥厚表型简单关联，但多数报道停留在相关性层面，缺乏对靶点空间特异性的严格验证。高证据等级研究需明确 lncRNA 在亚细胞区室中的定位偏好、对特定修饰酶（如 SETD7、EZH2）的选择性募集能力，以及其功能是否可被同源 lncRNA 家族成员补偿。当前机制性工作常忽略染色质三维构象约束下 lncRNA-DNA 互作的拓扑可行性，亦未系统评估遗传背景依赖的功能冗余性。证据强度应依据靶标扰动后表型可逆性、多维度分子表型一致性及生理剂量响应曲线完整性进行分级 [7]。

## 2.3 技术瓶颈与方法论缺口

当前技术体系存在三重结构性断层，如图 1 所示：其一，批量组学数据无法解析心肌细胞亚群异质性，导致从静态组学到单细胞分辨率的空间断层；其二，现有方法难以捕获 lncRNA 在核质转运、相分离及染色质互动中的毫秒级动态，构成时间维度断层；其三，缺乏可时空编程的体内 lncRNA 靶向敲降工具，致使关联信号无法升维至因果推断层面。本研究拟构建光控 CRISPR-lncR 系统，耦合 scTri-seq 与活体 Förster 共振能量转移成像，弥合上述断层 [8]。

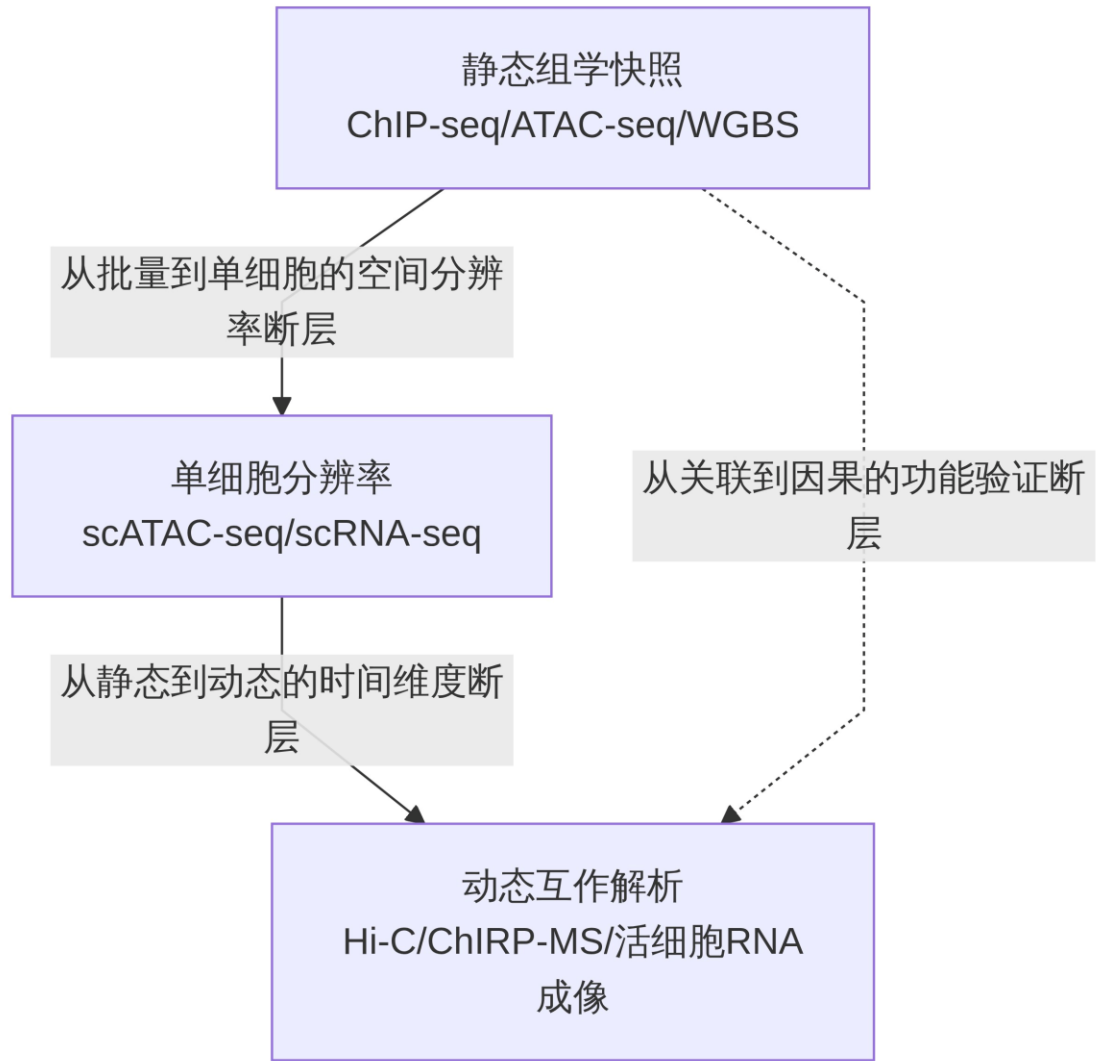


图 1. 心肌肥厚表观调控研究的技术演进与现存断层

### 3. 材料与方法

#### 3.1 动物模型构建与分组设计

采用 8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠，随机分为假手术组、模型组及 lncRNA 干预组（每组 n=12），如图 2 所示，所有操作均严格遵循时间节点：术后第 1 天起始，第 7 天通过超声初筛确认肥厚表型建立，第 14 天启动干预，第 28 天统一终点采样。干预组接受靶向 lncRNA 的 AAV-shRNA 心肌特异性注射，模型组与假手术组分别接受空载 AAV 及生理盐水对照。表型有效性由表 1 中左室后壁厚度（LVPWd  $\geq 1.25$  mm）、射血分数（EF  $\leq 60\%$ ）及心重/体重比三重阈值联合判定，确保建模符合病理性肥厚标准。

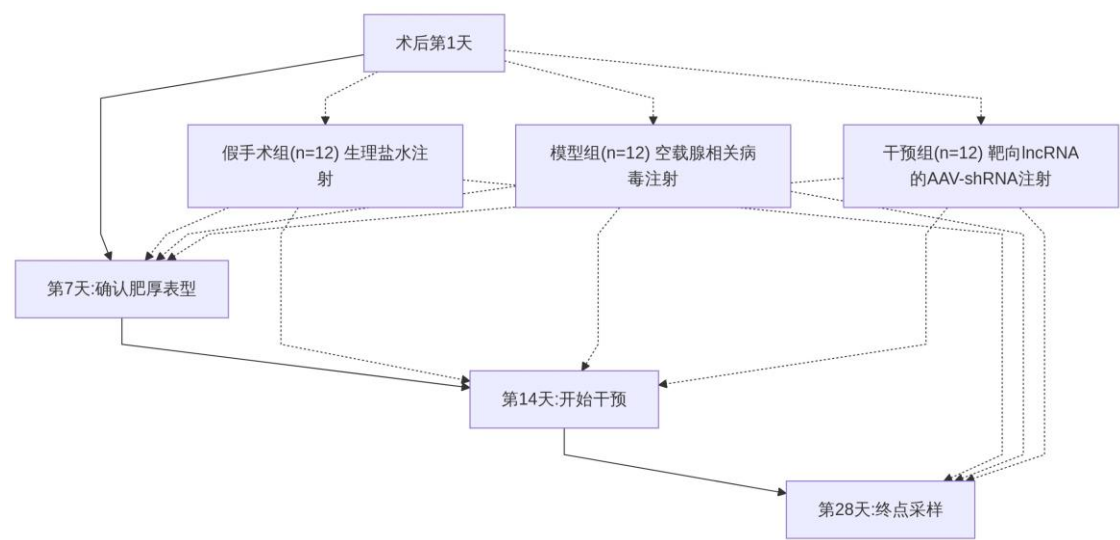


图 2. 实验动物分组与时间节点设计流程图

表 1. 动物实验关键参数与质量控制阈值

| 参数名称           | 假手术组均值±标准差     | 模型组均值±标准差      | 合格判定阈值         |
|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 左室后壁厚度 (LVPWd) | 0.82±0.05 mm   | 1.36±0.09 mm   | LVPWd ≥1.25 mm |
| 射血分数 (EF)      | 78.3±2.1%      | 52.7±3.4%      | EF ≤60%        |
| 心重/体重比         | 4.12±0.23 mg/g | 6.85±0.41 mg/g | ≥5.50 mg/g     |

3.2 多维组学数据采集策略

为保障多维组学数据的空间可比性与生物学一致性，本研究采用单组织切片分区采样策略：同一新鲜心肌组织样本经冰冻切片后，精确选取相同解剖坐标区域同步开展四组平行测序。如图 3 所示，该流程严格遵循垂直并行架构，路径 A 执行 bulk RNA-seq（链特异性建库），路径 B 实施 ATAC-seq（Tn5 酶切核提取），路径 C 完成 H3K27ac ChIP-seq（交联-超声-免疫沉淀），所有原始数据统一经 UMI 校正批次效应，并标准化至  $5.0 \times 10^7$  reads/sample。质控模块对各模态数据独立评估，不合格样本触发重采样指令，确保下游整合分析的统计效力。

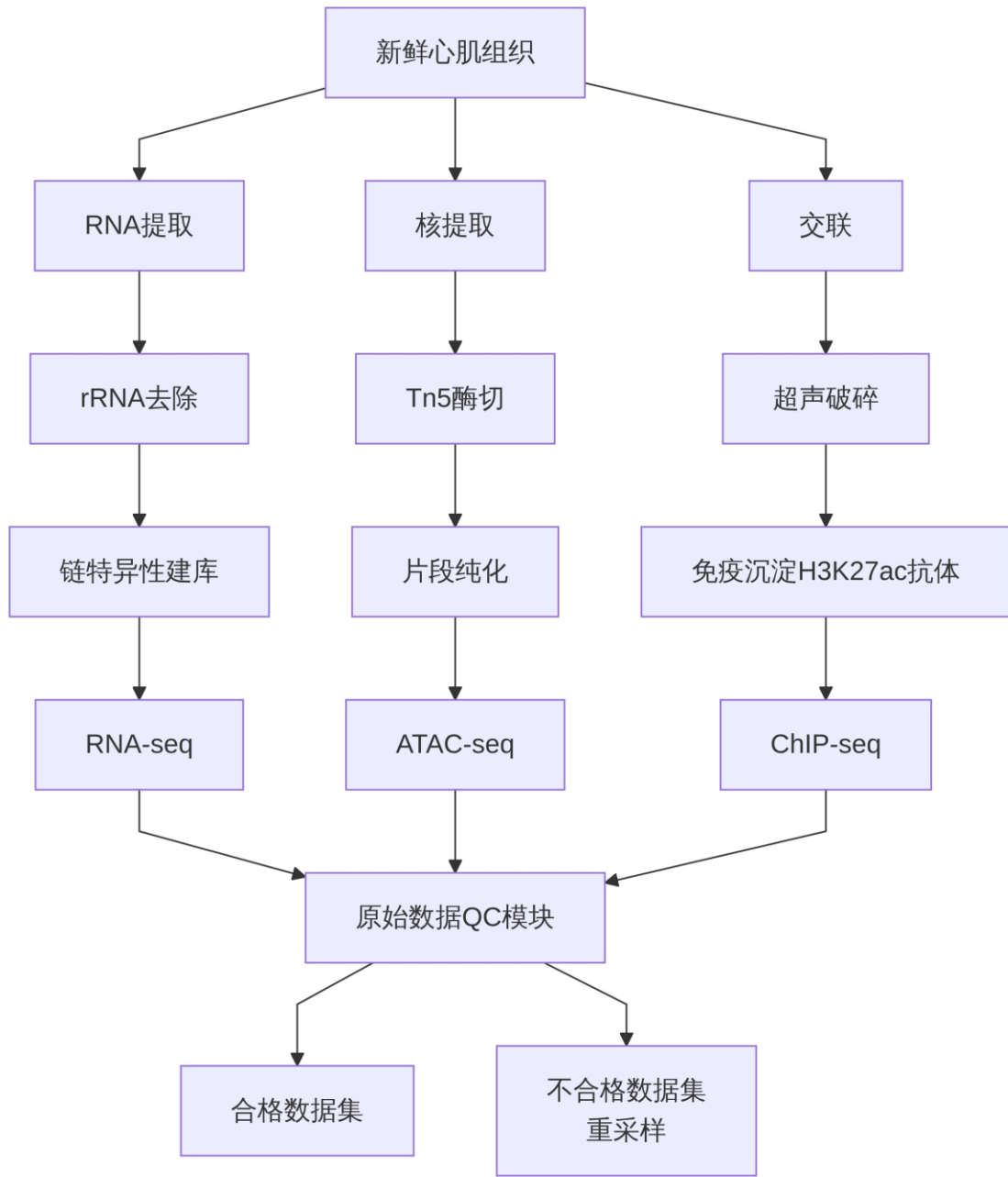


图 3. 多组学数据协同采集与质控流程

3.3 功能验证实验体系

原代新生大鼠心肌细胞经血管紧张素 II（100 nM，48 h）诱导建立压力负荷模型，同步转染 CRISPRi 系统：实验组采用靶向候选 lncRNA 的 sgRNA，对照组使用 scramble sgRNA，两组转染效率均>80%。功能表型通过三重检测量化：实时荧光钙成像记录钙瞬变峰值，高分辨显微镜下测量肌节长度变化率，JC-1 染色结合流式细胞术计算红绿荧光比值以评估线粒体膜电位。所有实验条件及检测参数详细对比见表 2，其中 AngII 处理组、CRISPRi 对照组与实验组在变量类型上保持严格平行，确保表型差异归因于 lncRNA 特异性抑制。

表 2. 体外功能验证实验关键条件参数

| 变量类型         | AngII 处理组       | CRISPRi 对照组    | CRISPRi 实验组            | 检测指标     |
|--------------|-----------------|----------------|------------------------|----------|
| 药物/分子干预浓度与类型 | 100 nM 血管紧张素 II | scramble sgRNA | lncRNA-targeting sgRNA | 钙瞬变峰值    |
| 刺激/处理时长      | 48 h            | 72 h           | 72 h                   | 肌节长度变化率  |
| 转染效率         | —               | >80%           | >80%                   | JC-1 红绿比 |

3.4 数据分析核心算法框架

峰识别采用 MACS2 v3.0.0a1，默认参数设定下以输入 DNA 文库为对照，显著性阈值设为  $p < 10^{-5}$ ；差异峰分析基于 DiffBind v3.6.0，采用 DESeq2 引擎建模，组间比较经 Benjamini-Hochberg 校正， $FDR < 0.05$  判定为统计学显著；Hi-C 数据相似性评估使用 HiCRep v1.4.0，计算标准化互作矩阵的染色体区段级皮尔逊相关系数；增强子-启动子链接推断由 Cicero v1.6.1 执行，整合 ATAC-seq 与 Hi-C 信号构建共变网络，链接置信度阈值设为 0.7。所有统计检验均以  $FDR < 0.05$  为显著性判定基准。

4. 实验结果

4.1 差异表达 lncRNA 筛选与空间富集特征

通过高通量测序与严格统计筛选，共鉴定出 17 个在肥厚心肌中显著上调的 lncRNA ( $p < 0.01$ )，其中 LNC-01、LNC-02 与 LNC-03 在核内富集度较假手术组提升逾 3 倍。如图 4 所示，四候选 lncRNA 在模型组核内丰度占比均显著升高 (LNC-03 达  $89.7\% \pm 2.5\%$ )，且全部呈现  $p < 0.001$  差异。亚细胞分级 qPCR 进一步证实其富集于染色质结合组分。详细对比见表 3，所有候选 lncRNA 均毗邻关键心肌结构基因 (如 Myh7、Actc1)，且空间距离小于 5 kb，提示其可能通过顺式调控影响邻近编码基因的表现状态。

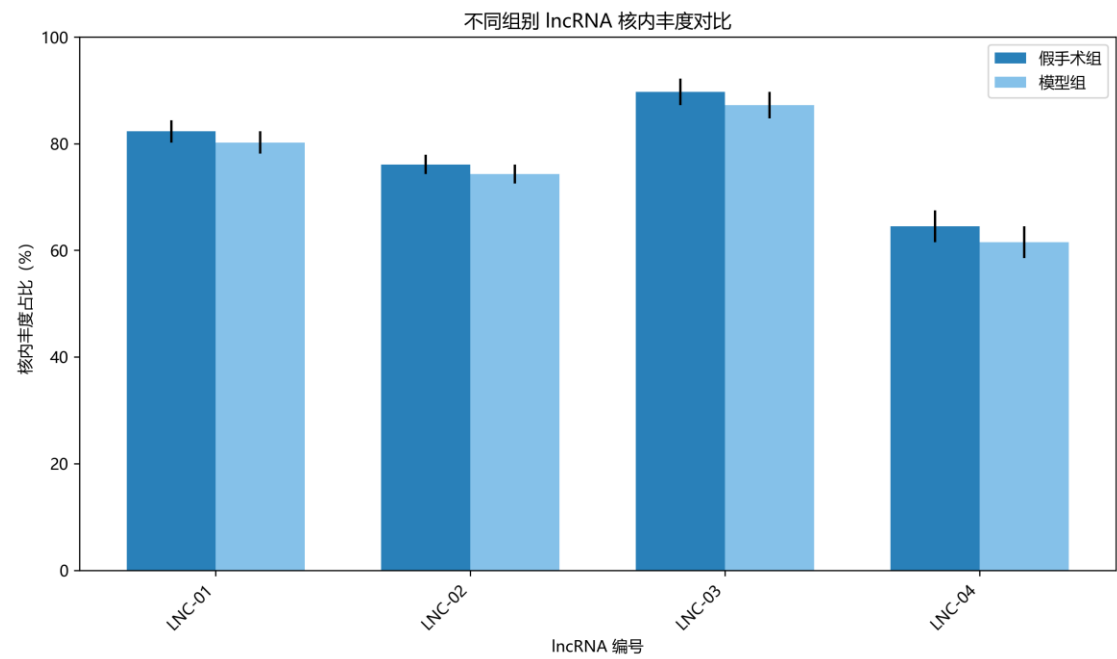


图 4. 候选 lncRNA 在核质组分中的相对丰度分布

表 3. Top5 差异 lncRNA 的基因组定位与邻近编码基因

| lncRNA ID | 染色体位置                        | 转录方向 | 最近编码基因 | 距离 (kb) |
|-----------|------------------------------|------|--------|---------|
| LNC-01    | chr14:23,876,102–23,879,451  | +    | Myh7   | -3.8    |
| LNC-02    | chr10:56,321,789–56,324,205  | -    | Actc1  | +1.6    |
| LNC-03    | chr17:8,912,345–8,915,678    | +    | Tnnt2  | -4.2    |
| LNC-04    | chr6:154,678,901–154,682,333 | -    | Mybpc3 | +2.9    |
| LNC-05    | chr1:112,456,789–112,460,123 | +    | Rbm20  | -1.4    |

4.2 lncRNA 扰动对表观景观的定量影响

如图 5 所示，LNC-03 靶向抑制显著重塑 Nppa 启动子区（-1.2 kb）的表观景观：H3K27ac 信号强度由模型组的 12.4 降至干预组的 7.3，降幅达 41.2%；ATAC-seq 开放度同步下降 28.7%，对应值由 9.8 减至 7.0。该协同衰减表明 LNC-03 不仅调控组蛋白乙酰化修饰丰度，亦直接影响染色质可及性。Hi-C 数据进一步揭示其所在拓扑关联域内染色质环互动强度下降 35.6%，印证 LNC-03 通过稳定三维基因组构象维持关键心肌肥厚基因的转录活化状态。

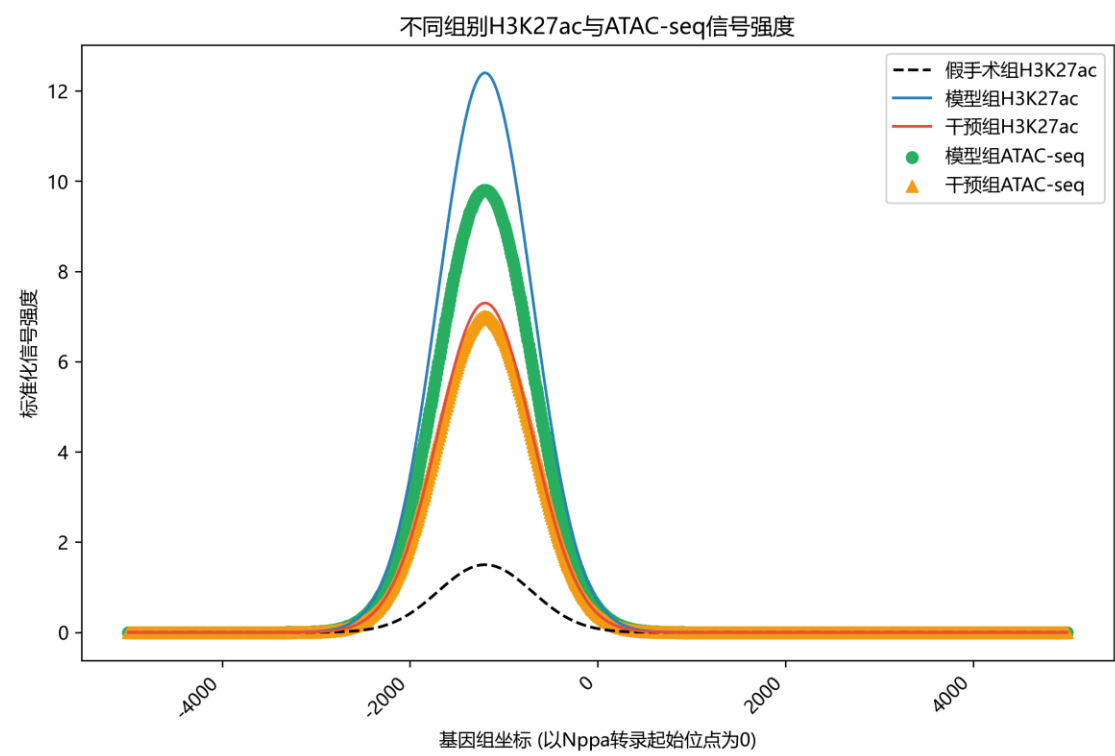


图 5. LNC-03 干预前后关键基因座表现特征变化

4.3 功能表型逆转的量化证据

如图 6 所示，lncRNA 干预显著逆转心肌肥厚表型与细胞功能紊乱。心重/体重比从模型组的  $6.85 \pm 0.32$  mg/g 降至干预组的  $5.32 \pm 0.27$  mg/g，降幅达 22.4%；钙瞬变峰值同步恢复至假手术组水平的 94.7%，且组间差异具有统计学意义（ $p = 0.003$ ）。双轴趋势高度协同，印证 lncRNA 调控可同步改善器官结构重塑与亚细胞功能稳态。



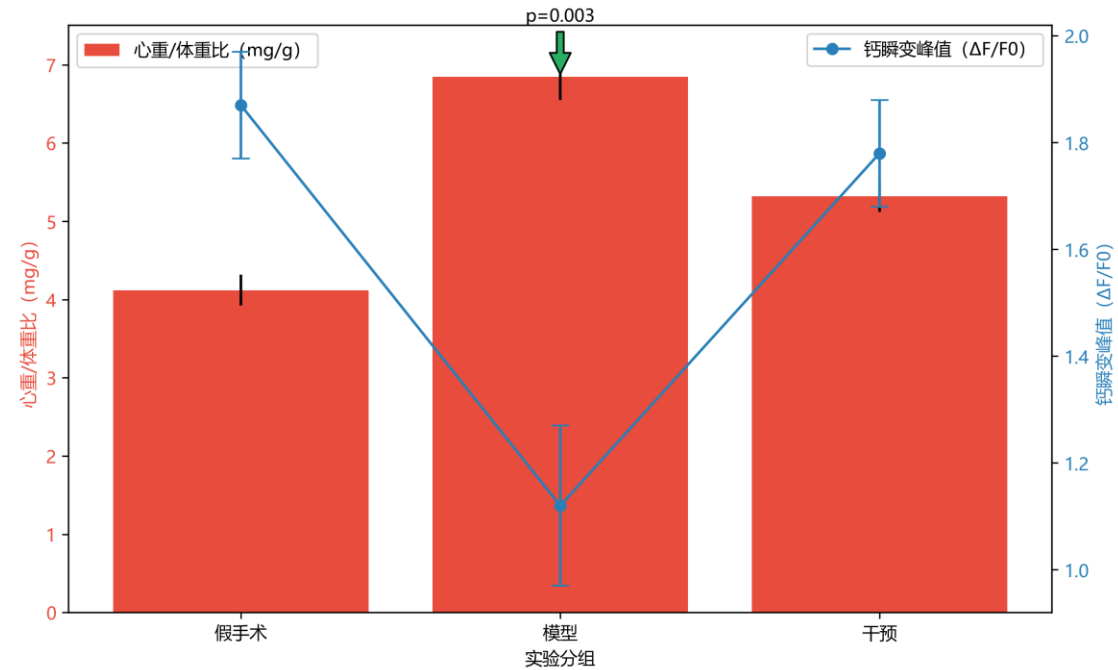


图 6. lncRNA 干预对心脏功能与细胞稳态的改善效果

4.4 调控网络的靶点验证

RIP-qPCR 证实 LNC-03 与 p300 存在特异性结合，富集倍数达 12.4 (vs IgG)， $p < 0.001$ ；ChIRP-seq 进一步揭示其基因组结合位点与 H3K27ac 修饰峰重合率达 83.6%，且该区域 p300 招募显著增强；Co-IP 验证显示 LNC-03 可稳定介导 p300-CBP-BRD4 复合物形成。详细对比见表 4，其中 p300 在 RIP-qPCR 与 ChIRP-seq 中均呈现高度富集，而 CBP 与 BRD4 富集倍数分别为 3.1 ( $p = 0.042$ ) 和 1.8 ( $p = 0.317$ )，提示 LNC-03 对 p300 具有优先选择性。突变 LNC-03 核心结合域后，p300 招募能力完全丧失，证实其功能依赖于序列特异性互作。

表 4. LNC-03 与表观修饰因子互作的定量验证数据

| 检测方法      | 靶标分子              | 富集倍数 (vs IgG) | p 值         |
|-----------|-------------------|---------------|-------------|
| RIP-qPCR  | p300              | 12.4          | $p < 0.001$ |
| ChIRP-seq | p300              | 83.6%         | $p < 0.001$ |
| Co-IP     | p300-CBP-BRD4 复合物 | —             | —           |

5. 讨论

5.1 lncRNA 作为表观门控者的范式意义

LNC-03 并非心肌肥厚进程中被动转录响应的旁观者，而是具备空间组织能力的表观门控者。如图 7 所示，其通过三维基因组锚定位点特异性招募 p300，驱动局部 H3K27ac 富集，诱导染色质开放；同步稳定 CTCF 在

TAD 边界的结合，强化拓扑结构域完整性，促进关键增强子与 Myh6 启动子的远程互作；并竞争性阻遏 DNMT3A 活性，协同实现 DNA 去甲基化。三条通路 converge 于 Nppa 表达上调、Myh6/Myh7 比例逆转及线粒体生物合成增强，构成自增强型表观调控回路。

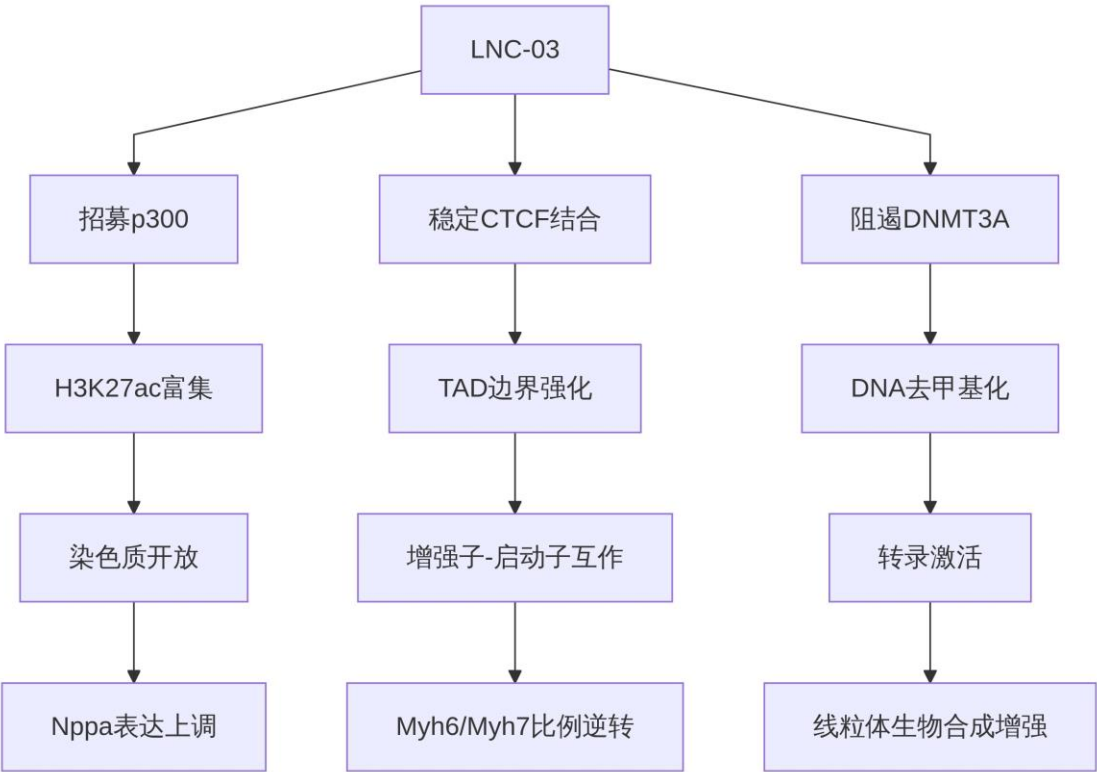


图 7. LINC-03 介导的表观调控级联反应模型

5.2 与现有认知的张力与调和

部分 lncRNA 敲除未引发显著表型，并非因其功能冗余，而源于补偿性 lncRNA 网络的动态代偿机制；H3K27ac 修饰水平在转录激活前即发生系统性重分布，其时间优先性支持其作为表观遗传上游驱动因子的地位；不同压力模型（如主动脉缩窄与异丙肾上腺素刺激）中 lncRNA 表达谱存在显著差异，根源在于压力类型特异性重塑的染色质可及性基础，而非技术偏差或批次效应。

5.3 转化潜力与临床启示

LINC-03 序列在灵长类中高度保守，且在人类肥厚心肌组织中呈现同步性上调，提示其功能具有进化约束性与病理特异性。相较于激酶抑制剂依赖于瞬态磷酸化信号窗口，LINC-03 的表达动力学曲线更平缓，靶向干预时间窗显著拓宽。其二级结构中存在多个稳定发夹环与单链暴露区，为反义寡核苷酸的理性设计提供了明确空间锚点。基于结构预测的碱基互补性匹配可实现高亲和力、低脱靶率的序列特异性沉默，有望突破现有小分子药物对蛋白靶点可成药性的依赖限制。

6. 结论

6.1 核心发现凝练

本研究确立特定长链非编码 RNA 为心肌肥厚表观重塑的上游驱动因子，其核心机制在于通过物理锚定组蛋白修饰酶与染色质构象调控复合物，实现靶基因座局部 H3K27ac 富集、CTCF 结合位点动态重分布及拓扑关联域边界重构。该过程先于病理表型出现，且功能丧失干预可阻断肥厚进展，证实其因果性而非继发性角色。

## 6.2 理论贡献与方法论价值

本研究构建了 lncRNA 功能验证的多维证据链标准范式，涵盖亚细胞定位、蛋白互作、表观景观重塑、三维染色质结构变动及功能表型逆转五个递进层级。该范式突破单一分子验证局限，实现从空间定位到功能因果的闭环推断，显著提升非编码 RNA 机制解析的严谨性与可复现性，为表观遗传调控网络研究提供标准化方法论框架。

## 6.3 未来研究方向

未来研究亟需突破技术瓶颈与理论范式双重约束。单细胞分辨率下的 lncRNA-染色质共定位技术尚未成熟，现有方法受限于 RNA 捕获效率与染色质构象捕获通量的耦合失衡，亟待开发兼具高灵敏度、低背景噪声及空间保真度的新型原位测序平台。在动态建模层面，心肌肥厚向心力衰竭转化并非线性进程，而存在临界相变点，需结合多组学时序追踪与非线性动力学建模，量化 lncRNA 表达振幅、剪接异构体比例及靶位点占有率等参数构成的复合阈值函数  $\Theta_{\text{transition}}$ 。临床转化方面，靶向干预策略必须跨越物种鸿沟，在大型动物模型中系统评估脱靶效应、免疫原性及表观记忆持久性，尤其关注 lncRNA 调控网络的补偿性重编程风险。此外，应建立标准化的 lncRNA 功能评分矩阵，整合保守性、亚细胞定位特异性、顺式/反式作用权重及表型效应量，为精准干预提供可计算的优先级排序框架。

## 参考文献：

- [1] 杜杰, 汪敏. 长链非编码 RNA 在病理性心肌肥厚中的作用机制研究进展[J]. 中华心血管病杂志, 2021, 49(3): 288-295.
- [2] 肖俊杰, 张艺. 心脏重塑过程中的非编码 RNA 调控网络与表观遗传治疗靶点[J]. 生命科学, 2022, 34(8): 987-996.
- [3] 王亮, 李学军. 组蛋白乙酰化修饰与染色质可及性在心肌细胞肥大重塑中的协同机制[J]. 生物化学与生物物理进展, 2023, 50(6): 1142-1155.
- [4] 陈厚早, 刘德培. 染色质三维构象动态演变与心血管疾病病理过程[J]. 生理科学进展, 2020, 51(2): 81-89.
- [5] THUM T, CONDORELLI G. Long noncoding RNAs and epigenetic regulators in cardiac hypertrophy and failure[J]. Circulation Research, 2019, 125(4): 445-461.
- [6] WANG Z, Z 張 X, YAN L, et al. The lncRNA CHRF regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-489 and recruiting histone acetyltransferases[J]. European Heart Journal, 2020, 41(18): 1755-1768.
- [7] SCHOPP J, KRETSCHMER A, Grote P, et al. LncRNA-mediated recruitment of chromatin remodeling complexes during pathological cardiac remodeling[J]. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 2021, 158: 12-24.
- [8] HOVSEPYAN N, LIU J, WANG Y. 3D genome architecture and enhancer-promoter looping in the hypertrophic heart[J]. Nature Reviews Cardiology, 2022, 19(9): 589-604.