

## • 综述 •

## Circular RNA 调控血管内皮功能失调研究进展

赵一秀, 刘 学, 张 妍\*

(哈尔滨医科大学药学院药理学教研室(省部共建国家重点实验室培育基地, 心血管药物研究教育部重点实验室), 黑龙江 哈尔滨 150081)

**摘要:** 动脉粥样硬化是指动脉内膜出现含胆固醇、类脂肪等黄色物质, 引起管腔狭窄甚至完全堵塞而诱发严重心血管事件的病理改变。动脉粥样硬化发病机制复杂, 血管内皮细胞功能失调是动脉粥样病变发生、发展的始动环节, 对动脉粥样硬化的预后具有决定性作用。环状RNA (circular RNA, circRNA) 是一类特殊的内源性非编码RNA, 已成为非编码RNA领域的研究热点。本文将综述血管内皮功能失调的发病机制、病理过程及circRNA调控血管内皮细胞病理生理功能的相关研究, 期为动脉粥样硬化治疗药物的研究提供新靶点和新思路。

**关键词:** 非编码RNA; 血管内皮; 动脉粥样硬化; 凋亡; 高血脂; 缺氧

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)02-0228-07

## Research progress of circular RNA in regulating vascular endothelial dysfunction

ZHAO Yi-xiu, LIU Xue, ZHANG Yan\*

(Department of Pharmacology (State-Province Key Laboratories of Biomedicine-Pharmaceutics of China, Key Laboratory of Cardiovascular Medicine Research, Ministry of Education), College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

**Abstract:** Atherosclerosis refers to vascular pathological changes in which vascular lumen was narrowed or blocked by cholesterol or fat existed in vascular endothelium, which could induce serious cardiovascular events. The pathogenesis of atherosclerosis is complicated extremely. Vascular endothelial dysfunction initiated the plaque formation and deterioration, which determined the prognosis of atherosclerosis. Circular RNA (circRNA) is a special endogenous non-coding RNA, which has become a research hotpot in the field of non-coding RNA. This review aims to bring together the recent research on the pathogenesis and pathological process of endothelial dysfunction, and the regulative effect of circRNA on it. Our article will provide new targets and new ideas for the research and development of anti-atherosclerosis drugs.

**Key words:** noncoding RNA; vascular endothelium; atherosclerosis; apoptosis; hyperglycemia; hypoxia

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是一种慢性进行性血管疾病, 其特征为斑块的形成、破裂及斑块表面血栓的形成, 通常伴随心肌缺血和心肌梗死等急性心血管事件, 是全球范围内导致心血管疾病死亡率居高

不下的最主要风险因素<sup>[1]</sup>。AS的诱发因素有很多, 高血压、吸烟、糖尿病、缺乏运动和肥胖等都与AS及其相关心血管疾病的发生、恶化密切相关。且研究表明, 以上危险因素的慢性暴露及循环中的有害刺激因素均可损害血管内皮的防御机制, 导致血管内皮完整性破坏, 引起血管内皮功能失调 (endothelial dysfunction)。越来越多的研究显示, 血管内皮功能失调对AS相关心血管疾病的发生、发展具有重要的调控作用<sup>[2]</sup>。

收稿日期: 2018-08-28; 修回日期: 2018-09-29.

基金项目: 中央引导地方科技发展专项 (ZY16A07).

\*通讯作者 Tel: 86-451-86671354, E-mail: zhangyan@ems.hrbmu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0790

环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一种特殊的内源性非编码 RNA。由于 circRNA 为闭合的环状结构, 因此并没有线性 RNA 的 5' 帽子结构和 3' 尾巴结构<sup>[3]</sup>。circRNA 最初被发现的时候, 曾被认为是由于可变剪切出错形成的, 甚至被认为是实验操作因素或遗传异常造成的, 并没有被学术界所重视<sup>[4]</sup>。随着 RNA 测序技术及生物信息学的发展, 发现在哺乳动物细胞中存在大量进化保守的 circRNA<sup>[5-7]</sup>。已有研究表明, circRNA 参与血管内皮功能失调的发生、发展, 对 AS 相关心血管疾病具有潜在调控作用。本文将综述 circRNA 在血管内皮功能调控中的研究进展, 为 AS 发病机制的研究及治疗药物的研发提供理论依据。

## 1 血管内皮功能失调分类

血管内膜为一类巨大的、有选择性通透能力的介质, 可将血管及循环血液中的物质分离, 并作为门控系统调控体液中高分子物质通过细胞间连接复合体进行转运<sup>[8]</sup>。从经典的生物化学和药理学的角度, 血管内膜的生理功能主要为: 调控血管活性物质的合成与降解、调节氧化还原平衡、调控脂蛋白代谢和转运、调控细胞外基质分泌、调控生长因子、细胞因子和激素的精细功能、调控前列腺素 (尤其是环前列腺素) 和其他内分泌物的生物合成。从止血和血栓形成的角度, 血管内膜抑制内源性凝血级联的激活及血小板黏附, 具有抗凝和纤溶特性。从生物工程的角度, 血管内膜可作为生物力学传感器, 感知并转导来自血液的各种生物力并转化为生物效应。从病理学的角度, 当血管内膜受到某些促炎细胞因子或细菌产物的刺激时, 内皮细胞中某些基因将被激活并改变细胞功能特性, 产生相应的适应性反应<sup>[9]</sup>。因此, 血管内膜功能失调时, 将产生在正常功能表型下的各种非适应性改变, 主要分为以下几类:

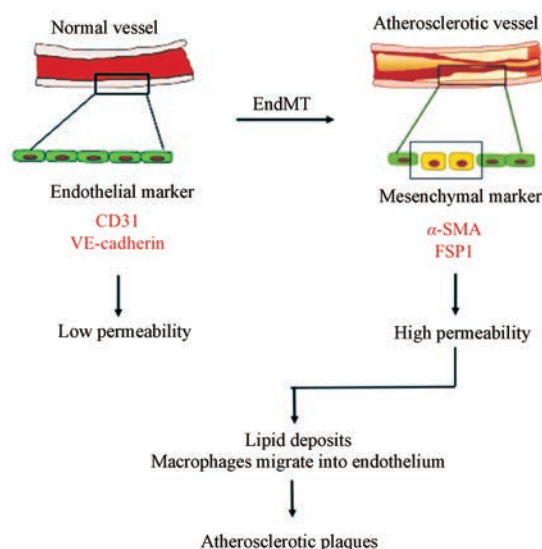
**1.1 内皮依赖性血管舒张功能下降** 许多研究证实, AS 早期即出现内皮依赖性血管舒张功能的明显下降, 这种功能性的改变明显早于 AS 的形态学改变。Ludmer 等<sup>[10]</sup>使用冠状动脉血管造影证实, 血管内膜介导的内皮依赖性血管舒张功能对 AS 相关心血管疾病具有重要临床意义: 与正常冠状动脉血管相比, AS 患者的冠状动脉对乙酰胆碱表现出剂量依赖性的血管收缩反应。重要的是, 即便是病变很轻微的动脉血管, 依然表现为对乙酰胆碱的收缩反应, 而对硝酸甘油则表现为舒张反应, 进一步说明内皮依赖性血管舒张反应的降低是血管内皮功能失调的始动环节。

**1.2 内皮细胞凋亡** 细胞凋亡是由于细胞表面分子受到诱导因子刺激并将信号传入细胞, 形成级联信号

传导, 通过启动细胞内部基因表达, 最终诱发细胞死亡的过程。正常血管壁存在少量的细胞凋亡, 对维持血管的正常发育必不可缺, 而在 AS 时则出现异常活跃的血管内皮细胞凋亡<sup>[11]</sup>。内皮细胞凋亡参与 AS 发生、发展主要体现在以下几个方面: ① 破坏血管内皮结构和功能: 内皮细胞凋亡会破坏内皮连接紧密性使之通透性增加, 促使单核细胞及平滑肌细胞向内膜迁移, 形成斑块; 损害内皮细胞的正常功能, 引起血管张力异常。② 促进血栓形成: 内皮细胞凋亡使局部抗凝和纤溶机制减弱, 引起血小板聚集和血栓形成。③ 引起血管重构: 内皮细胞凋亡增加内皮细胞在斑块处新生, 引起血管壁细胞构成异常、血管壁硬化及血管重构。④ 导致斑块破裂或脱落: 活跃的细胞凋亡对斑块的稳定极为不利, 易于造成斑块脱落, 诱发临床事件。总之, 血管内皮细胞凋亡参与了 AS 发生、发展的全过程<sup>[12,13]</sup>。

**1.3 内皮-间质转化** 研究表明, 血管内膜完整性缺失的另一个重要原因, 是由于内皮细胞在多种因素刺激下, 发生了向间充质细胞转化的病理过程, 即内皮-间质转化 (endothelial-mesenchymal transition, EndMT)。在此过程中, 内皮细胞逐渐失去原有形态和功能, 内皮细胞特异性标志物 CD31 和 VE-cadherin 表达下调, 导致细胞间连接能力下降, 细胞与细胞间间隙增大; 间质细胞特异性标志物  $\alpha$ -SMA 和 FSP1 表达上调, 导致细胞骨架重排, 细胞收缩能力增强, 进而引起血管内膜通透性增强, 并获得增殖、迁移和合成胶原等间充质细胞表型特点, 导致脂质沉积和巨噬细胞迁移到内膜下, 启动 AS 的病理进程<sup>[14]</sup>。因此, 血管内皮细胞 EndMT 是 AS 的始动环节 (图 1)。EndMT 可由多种病理因素介导, 如高血脂、缺氧、炎症细胞因子及生长因子等, 最终诱发多种心血管疾病。EndMT 属于上皮-间质转化的一种。研究显示, EndMT 在心脏、血管组织重构和心脏瓣膜病变等过程中发挥关键的生理和病理作用, 提示 EndMT 可能是心血管疾病防治的重要靶点<sup>[15-17]</sup>。已有研究表明, AS 时血管内皮细胞可在炎症、缺氧及氧化应激等有害因素的刺激下发生 EndMT, 引起胶原及基质金属蛋白酶合成增多, 破坏斑块稳定性并诱发心血管事件; 高脂饮食喂养的 *ApoE*<sup>-/-</sup> 小鼠中, 其血管内皮 TGF- $\beta$  信号通路激活, 诱发 EndMT, 继而加剧新生内膜增生及 AS<sup>[18,19]</sup>。因此, EndMT 是 AS 的重要病理基础。

**1.4 血管新生** 研究表明, 血管内皮损伤时会引起组织局部缺氧, 导致缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 表达升高, 继而引起下游一系列血管新生相关基因转录升高, 如血管内皮生长因子 (vas-



**Figure 1** Vascular endothelium EndMT initiates atherosclerotic plaques formation. EndMT: Endothelial-mesenchymal transition; VE-cadherin: Vascular endothelium cadherin

cular endothelial growth factor, VEGF) 等, 最终促进动脉壁血管新生, 即病理性血管新生。近年来的研究表明, AS 斑块内常伴有病理性血管新生。病理性的新生血管不但可以给斑块提供丰富血液、氧气和养分, 同时, 还可以作为血脂运输的载体将血脂运输到脂质斑块内, 可促进动脉粥样斑块的生长, 并引起炎症因子黏附与聚集而加剧炎症反应, 甚至引起斑块不稳定, 导致斑块破裂、脱落, 引起冠心病、脑卒中等相关心血管疾病。这些研究结果说明, AS 脂质斑块内的血管新生可加速 AS 的恶化。因此, 斑块内血管新生作为引起血管内皮功能失调的重要病理过程, 可作为 AS 治疗新靶点<sup>[20,21]</sup>。

## 2 血管内皮功能失调的发生机制

作为血管组织和血液的屏障细胞, 血管内皮细胞可率先感知循环血液中的各种有害信号的刺激, 导致血管内皮功能失调。血管内皮功能失调对止血和血栓形成、局部血管张力调节、氧化还原平衡、急性慢性炎症均有重要的影响<sup>[22-24]</sup>。血管内皮功能失调的发病机制可大致概括为以下几个方面:

**2.1 一氧化氮利用度降低** 血管内皮细胞可分泌多种血管活性因子, 并可影响其他多种类型细胞的功能, 包括血管壁细胞(如周皮细胞、平滑肌细胞)和血液循环中的细胞(如血小板、白细胞)<sup>[25]</sup>。1980年, Furchgott 和 Zawadzki<sup>[26]</sup>首次证实, 乙酰胆碱引起的血管舒张依赖于血管内膜的完整性, 且由一类潜在的体液因子所调控, 称之为内皮衍生的舒张因子(endothelium derived relaxant factor, EDRF)。多项研究证明, EDRF

是一种不稳定物质, 其半衰期在含氧生理介质中只有几秒<sup>[27]</sup>。EDRF 的生物学效应可由血管平滑肌细胞内可溶性鸟苷酸环化酶的激活及环磷鸟苷含量的升高所介导<sup>[28]</sup>。基于 EDRF 和一氧化氮(nitric oxide, NO) 药理学特性极为相似, 因此 EDRF 被认为是 NO 或一类不稳定的亚硝基类物质<sup>[29]</sup>。1988年, 研究证实, 内皮细胞可在一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 的作用下将 L-精氨酸转化为 NO。基础条件下, 内皮细胞生成的 NO 参与调节血管张力, 并保护血管内膜参与抗血栓形成。病理条件下, 特异性 eNOS 基因缺失小鼠的主动脉对乙酰胆碱显示为收缩反应, 但对硝普钠或罂粟碱显示为舒张反应, 说明该小鼠主动脉血管内膜已损伤或丧失<sup>[30]</sup>。此外, eNOS 基因缺失小鼠显示为较强的内皮-白细胞黏附、血小板聚集及血栓形成。若与载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 基因缺失小鼠杂交, 则会加速 AS 的形成<sup>[31]</sup>。因此, 人类和动物的内皮细胞产生的 NO 对血管内膜功能、血管舒张反应及抑制 AS 的形成具有重要的临床意义。

**2.2 炎症反应** 研究证实, 微血管的血管内膜参与由受伤或感染引起的急、慢性炎症反应。组胺等炎症因子可引起典型炎症反应症状, 如红、肿、热、痛, 并影响微血管张力、血管通透性及白细胞渗出, 这一过程称为“I型激活”<sup>[32]</sup>。I型激活的炎症反应开始迅速并具有自限性, 并不足以引起血管内膜发生持续性的病理改变及功能异常。相反, 在一些特定病理条件的刺激下, 如细菌产物、修饰的脂蛋白及炎症因子等, 内皮细胞会产生显著的功能表型变化, 称为“II型激活”<sup>[33]</sup>。II型激活的炎症反应的主要特点为一些多效性转录因子的激活, 如核转录因子 kappa B (nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B), 可影响多种效应蛋白分子的表达并参与多种病理生理过程<sup>[34]</sup>。通常, 调控促炎和抗炎分子的平衡及一些有助于抑制细胞内炎症反应的药物能有效延缓动脉粥样斑块的形成和发展; 而一些炎症急性期反应物如白介素-6 (interleukin-6, IL-6), 也可成为动脉斑块有效的诊断和预后标志物<sup>[35]</sup>。

研究表明, NF- $\kappa$ B 在 AS 血管内皮促炎激活中发挥了重要作用。研究已证实, 动脉血管内膜中, 多种诱发内皮功能失调的刺激因素均与 NF- $\kappa$ B 信号通路有关: 如 NF- $\kappa$ B 调控内皮功能失调相关的效应分子如血管内皮黏附分子-1、单核细胞趋化蛋白-1 的表达; 某些特定血流敏感性内皮基因如血小板衍生生长因子-b 的启动子区域存在非典型的 NF- $\kappa$ B 结合位点; 在动脉粥样斑块易损区, NF- $\kappa$ B 可诱导内皮细胞向促炎表型转化并诱发 AS 等<sup>[36]</sup>。

**2.3 缺氧及氧化应激** 研究发现, 血管内膜中氧化还

原失衡可破坏血管内膜的生理功能,引起血管内皮功能失调。生理状态下,内皮细胞中氧化应激反应可提供细胞正常生理、生化反应所需能量,其产生的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 等高能代谢产物可被细胞内的抗氧化系统完全代谢。然而,在病理状态下,机体抗氧化能力急剧下降,当血管收缩引起血压升高或血管内皮受到某些神经体液信号刺激时,内皮细胞内 ROS (如过氧化氢  $H_2O_2$ 、超氧阴离子  $\cdot O_2^-$  等) 的大量生成引发大规模氧化应激反应,引起血管内皮结构改变和功能异常,导致血管内皮功能失调<sup>[37]</sup>。研究发现,内皮细胞内生成的  $H_2O_2$  可通过肌内皮连接扩散至平滑肌细胞中,激活 COX 介导前列腺素类物质生成及血管异常收缩。而内皮细胞生成的  $\cdot O_2^-$  具有极强的降解 NO 的作用,可与 NO 反应生成过氧亚硝酸盐,致 NO 生物利用度显著下降。同时,  $\cdot O_2^-$  也可抑制内皮细胞中前列环素的形成,继而抑制内皮依赖性血管舒张反应。此外,内皮细胞内 NADH/NADPH 氧化酶系统、黄嘌呤氧化酶系统及 eNOS 的异常激活也可诱导  $\cdot O_2^-$  的大量产生,导致内皮细胞中蛋白质、脂质、DNA 损伤及内皮功能障碍。而内源性抗氧化剂如超氧化物歧化酶可拮抗  $H_2O_2$  与  $\cdot O_2^-$  的有害效应,保持机体  $\cdot O_2^-$  与 NO 的相对平衡<sup>[38-40]</sup>。

### 3 circRNA 对血管内皮功能失调的调控

**3.1 circRNA 与血管内皮细胞凋亡** 研究证实,高脂血症是诱发 AS 的独立危险因素。机体脂代谢异常时,血液中过剩的氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 可通过激动内皮细胞膜表面血凝素样氧化型低密度脂蛋白受体-1 增加血管内皮细胞凋亡,引起血管内皮功能失调<sup>[41]</sup>。大量文献表明,血管内皮细胞凋亡是 AS 形成的始动环节,参与 AS 的起始、进展和晚期斑块破裂等全过程<sup>[42]</sup>。Li 等<sup>[43]</sup> 报道,采用 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 中, has\_circ\_0003575 及 has\_circ\_0003204 表达显著上调, has\_circ\_0004264 及 has\_circ\_0000345 表达显著下调; 采用 siRNA 沉默 has\_circ\_0003575 后可明显抑制 ox-LDL 诱导的 HUVEC 凋亡,促进细胞迁移及血管新生。

糖尿病血管病变可引起糖尿病终末期肾衰、失明、AS 等严重并发症,是糖尿病患者的主要死亡原因之一。视网膜血管内皮功能失调是糖尿病致盲的独立危险因素,表现为血管通透性增强、非细胞毛细血管生成及炎症反应<sup>[44]</sup>。Shan 等<sup>[45]</sup> 研究表明, circHIPK3 在糖尿病视网膜及压力诱导的视网膜内皮细胞中显著上调,体外实验中,沉默或过表达 circHIPK3 可影响视网膜内皮细胞增殖、迁移及管状结构形成。在在体水平,

沉默 circHIPK3 可减轻视网膜血管功能障碍,抑制视网膜非细胞毛细血管生成、血管通透性及炎症反应。此外,机制研究表明, circHIPK3 可作为 miR-30a-3p 的海绵抑制其活性,增加 VEGFC、FRP4 及 WNT2 的表达,发挥上述生物学功能。

除高脂、高糖外,缺氧也是常见的导致血管内皮功能失调的危险因素。在缺氧诱导的 HUVEC 中,采用基因芯片及 RT-PCR 技术证实 has\_circ\_0010729 表达显著上调,敲除 has\_circ\_0010729 可抑制细胞的增殖、迁移能力并促进细胞凋亡。采用生物信息学分析及分子生物学手段验证 has\_circ\_0010729 通过负向调控 miR-186 增强 HIF-1 $\alpha$  对缺氧诱导的细胞凋亡的调控<sup>[46]</sup>。Holdt 等<sup>[47]</sup> 研究显示, circANRIL 调控雌激素受体共调节因子 RSRC-1 基因转录,参与前体 rRNA 生成及核糖体生物合成。抑制 circANRIL 可诱导细胞核仁压力及 p53 基因的激活,导致细胞凋亡及 AS。Zheng 等<sup>[48]</sup> 研究显示,在人主动脉瘤及缺氧诱导的血管平滑肌细胞中, has\_circ\_000595 表达上调,敲除 has\_circ\_000595 可显著减少细胞凋亡,机制研究显示, has\_circ\_000595 通过靶向 miR-19a,继而介导 COX-2、HIF-1 $\alpha$  及 NF- $\kappa$ B 发挥其调控细胞凋亡的生物学功能。

**3.2 circRNA 与血管内皮-间质转化** Huang 等<sup>[49]</sup> 报道,在采用转化生长因子  $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) 诱导的大鼠 CAEC 中,共有 102 个 circRNA 表达改变,其中 66 个 circRNA 表达上调,26 个 circRNA 表达下调,生物信息学分析显示共有 3 个 circRNA 与 EndMT 相关,包括: chr5:90817794|90827570、chr8:71336875|71337745 和 chr6:22033342|22038870。KEGG 信号通路分析显示,在 TGF- $\beta$ 1 诱导的 EndMT 过程中,表达异常的 circRNA 主要通过调控肌动蛋白细胞骨架及黏着斑信号通路发挥其生物学作用。血管内皮细胞肌动蛋白细胞骨架以其特有的机械性、收缩性介导 Rho 鸟苷三磷酸酶参与细胞增殖、迁移、内皮屏障及血管重构等病理生理过程,并与细胞黏附蛋白共同调控内皮细胞连接动力学。而这些表达变化的 circRNA 可通过调控肌动蛋白细胞骨架及内皮细胞间黏着斑的形成参与调控血管内皮功能失调,为深入探讨 circRNA 在 EndMT 相关心血管疾病中的功能提供参考。

**3.3 circRNA 与血管新生** circRNA-Czfn609 在高糖及缺氧诱导的 HUVEC 中显著上调,沉默 circRNA-Czfn609 可抑制血管内皮细胞迁移及管状结构形成,保护内皮细胞并增强其对氧化应激损伤及缺氧应激损伤的抵抗能力。机制研究显示, circRNA-Czfn609 通过海绵机制抑制 miR-615-5p 的活性而上调心肌细胞

增强因子2A表达,继而发挥调控血管新生的生物学功能<sup>[50]</sup>。He等<sup>[51]</sup>研究显示, circRNA-SHKBP1在神经胶质瘤U87细胞诱导的内皮细胞中显著上调,敲减 circRNA-SHKBP1后显著抑制内皮细胞增殖、迁移及管状结构形成;机制研究显示, circRNA-SHKBP1通过 miR-544a-FOXP1及 miR-379-FOXP2途径发挥调控血管新生作用。此外, circRNA-cZNF292在缺氧诱导的HUVEC中表达上调,沉默 circ-cZNF292可减少HUVEC管状结构形成及球体发芽,抑制血管新生<sup>[52]</sup>。Yang等<sup>[53]</sup>研究发现,沉默 circRNA-cZNF292可通过抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路及相关基因 PRR11、Cyclin A、p-CDK2、VEGFR-1/2、p-VEGFR-1/2、EGFR的表达等抑制细胞增殖,并使细胞周期停止于S/G<sub>2</sub>/M期,从而抑制血管新生。

#### 4 总结与展望

多种病理刺激因素可直接引发血管内皮功能失调及AS,主要包括高血脂、糖尿病、高血压、激素、年龄、氧化应激、促炎细胞因子、细菌内毒素等。然而,目前对于血管内皮功能失调的治疗大多集中于减轻心血管风险因素,而非直接靶向于减轻或逆转血管内皮损伤。在病理因素的刺激下,血管内皮细胞中 circRNA的表达谱发生了显著改变,且已有研究证实,这些改变与血管内皮功能失调的发生密切相关(图2)。因而, circRNA具有作为新型的血管内皮功能失调的标志物的潜能,并有望成为“内皮靶向治疗药物”的靶点,用于减轻血管内皮损伤、发挥保护血管内皮功能及治疗AS相关心血管疾病的作用。

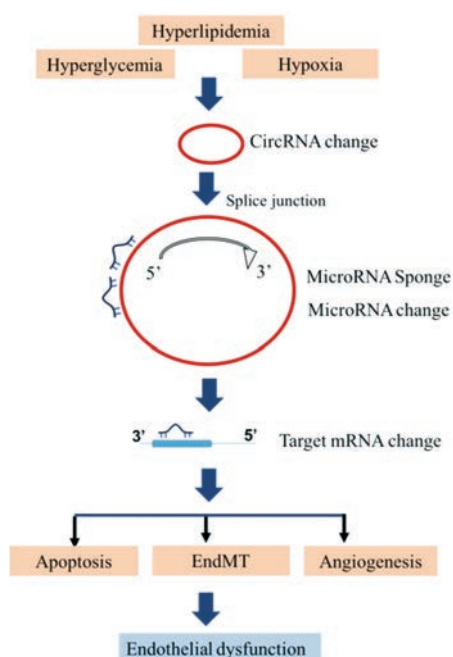


Figure 2 Circular RNA regulate endothelial dysfunction

#### References

- [1] Weber C, Noe H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options [J]. *Nat Med*, 2011, 17: 1410-1422.
- [2] Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2004, 109: III27-III32.
- [3] Chen LL, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis [J]. *RNA Biol*, 2015, 12: 381-388.
- [4] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1976, 73: 3852-3856.
- [5] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. *Nature*, 2013, 495: 333-338.
- [6] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long non-coding RNAs [J]. *Mol Cell*, 2013, 51: 792-806.
- [7] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495: 384-388.
- [8] Gimbrone MA Jr. Vascular endothelium: nature's blood-compatible container [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1987, 516: 5-11.
- [9] Gimbrone MA Jr, Guillermo GG. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2016, 118: 620-636.
- [10] Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries [J]. *N Engl J Med*, 1986, 315: 1046-1051.
- [11] Sawamura T, Wakabayashi I, Okamura T. LOX-1 in atherosclerotic disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 440: 157-163.
- [12] Daiber A, Steven S, Weber A, et al. Targeting vascular (endothelial) dysfunction [J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174: 1591-1619.
- [13] Simionescu M. Implications of early structural-functional changes in the endothelium for vascular disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27: 266-274.
- [14] Kovacic JC, Mercader N, Torres M, et al. Epithelial-to-mesenchymal and endothelial-to-mesenchymal transition: from cardiovascular development to disease [J]. *Circulation*, 2012, 125: 1795-1808.
- [15] Xu X, Friehs I, Zhang HT, et al. Endocardial fibroelastosis is caused by aberrant endothelial to mesenchymal transition [J]. *Circ Res*, 2005, 96: 280-291.
- [16] Ranchoux B, Antigny F, Rucker-Martin C, et al. Endothelial to mesenchymal transition in pulmonary hypertension [J]. *Circulation*, 2015, 131: 1006-1118.
- [17] Yao Y, Jumabay M, Ly A, et al. A role for the endothelium in vascular calcification [J]. *Circ Res*, 2013, 113: 495-504.
- [18] Chen PY, Qin L, Baeyens N, et al. Endothelial to mesenchymal transition drives atherosclerosis progression [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125: 4514-4528.

- [19] Evrard SM, Lecce L, Michelis KC, et al. Endothelial to mesenchymal transition is common in atherosclerotic lesions and is associated with plaque instability [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11853.
- [20] Virmani R. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25: 2054-2061.
- [21] Kolodgie FD. Elimination of neoangiogenesis for plaque stabilization: is there a role for local drug therapy? [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49: 2093-2101.
- [22] Gimbrone MA Jr, Garcia-Cardena G. Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2013, 22: 9-15.
- [23] Chiu JJ, Chien S. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives [J]. *Physiol Rev*, 2011, 91: 327-387.
- [24] Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, et al. Role of oxidative stress in atherosclerosis [J]. *Am J Cardiol*, 2003, 91: 7A-11A.
- [25] Moncada S, Herman AG, Higgs EA, et al. Differential formation of prostacyclin (PGX or PGI<sub>2</sub>) by layers of arterial wall. An explanation for the anti-thrombotic properties of vascular endothelium [J]. *Thromb Res*, 1977, 11: 323-344.
- [26] Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine [J]. *Nature*, 1980, 288: 373-376.
- [27] Griffith TM, Edwards DH, Lewis MJ, et al. The nature of endothelium-derived vascular relaxant factor [J]. *Nature*, 1984, 308: 645-647.
- [28] Rapoport RM, Murad F. Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP [J]. *Circ Res*, 1983, 52: 352-357.
- [29] Ignarro LJ, Buga GM, Wei LH, et al. Role of the arginine-nitric oxide pathway in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation [J]. *Pro Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98: 4202-4208.
- [30] Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from *L*-arginine [J]. *Nature*, 1988, 333: 664-666.
- [31] Huang PL, Huang Z, Mashimo H, et al. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase [J]. *Nature*, 1995, 377: 239-242.
- [32] Kuhlencordt PJ, Gyurko R, Han F, et al. Accelerated atherosclerosis, aortic aneurysm formation, and ischemic heart disease in apolipoprotein E/ endothelial nitric oxide synthase double-knockout mice [J]. *Circulation*, 2001, 104: 448-454.
- [33] Pober JS, Cotran RS. The role of endothelial cells in inflammation [J]. *Transplantation*, 1990, 50: 537-544.
- [34] Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7: 803-815.
- [35] Libby P, Ridker P. Inflammation and atherothrombosis: from population biology and bench research to clinical practice [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 48: A33-A46.
- [36] Brown JD, Lin CY, Duan Q, et al. NF-kappa B directs dynamic super enhancer formation in inflammation and atherogenesis [J]. *Mol Cell*, 2014, 56: 219-231.
- [37] Gamez-Mendez AM, Vargas-Robles H, Ríos A, et al. Oxidative stress-dependent coronary endothelial dysfunction in obese mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0138609.
- [38] Liang CF, Liu JT, Wang Y, et al. Toll-like receptor 4 mutation protects obese mice against endothelial dysfunction by decreasing NADPH oxidase isoforms 1 and 4 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33: 777-784.
- [39] Cheang WS, Wong WT, Tian XY, et al. Endothelial nitric oxide synthase enhancer reduces oxidative stress and restores endothelial function in *db/db* mice [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 92: 267-275.
- [40] Ketonen J, Pilvi T, Mervaala E. Caloric restriction reverses high-fat diet-induced endothelial dysfunction and vascular superoxide production in C57Bl/6 mice [J]. *Heart Vessels*, 2010, 25: 254-262.
- [41] Chen TG, Chen TL, Chang HC, et al. Oxidized low-density lipoprotein induces apoptotic insults to mouse cerebral endothelial cells *via* a Bax-mitochondria-caspase protease pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2007, 219: 42-53.
- [42] Choy JC, Granville DJ, Hunt DW, et al. Endothelial cell apoptosis: biochemical characteristics and potential implications for atherosclerosis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33: 1673-1690.
- [43] Li CY, Ma L, Yu B. Circular RNA hsa\_circ\_0003575 regulates oxLDL induced vascular endothelial cells proliferation and angiogenesis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 1514-1519.
- [44] Stitt AW, Curtis TM, Chen M, et al. The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016, 51: 156-186.
- [45] Shan K, Liu C, Liu BH, et al. Circular Non-coding RNA HIPK3 mediates retinal vascular dysfunction in diabetes mellitus [J]. *Circulation*, 2017, 136: 1629-1642.
- [46] Dang RY, Liu FL, Li Y. Circular RNA has\_circ\_0019729 regulates vascular endothelial cell proliferation and apoptosis by targeting the miR-186/HIF-1 $\alpha$  axis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490: 104-110.
- [47] Holdt LM, Stahring A, Sass K, et al. Circular non-coding RNA ANRIL modulates ribosomal RNA maturation and atherosclerosis in humans [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12429.
- [48] Zheng C, Niu H, Li M, et al. Cyclic RNA has-circ-000595 regulates apoptosis of aortic smooth muscle cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12: 6656-6662.
- [49] Huang XF, Chen YJ, Xiao JH, et al. Identification of differentially expressed circular RNAs during TGF- $\beta$ 1-induced endothelial-to-mesenchymal transition in rat coronary artery endothelial

- cells [J]. *Anatol J Cardiol*, 2018, 19: 192-197.
- [50] Liu C, Yao MD, Li CP, et al. Silencing of circular RNA-ZNF609 ameliorates vascular endothelial dysfunction [J]. *Theranostics*, 2017, 7: 2863-2877.
- [51] He Q, Zhao L, Liu Y, et al. circ-SHKBP1 regulates the angiogenesis of U87 glioma-exposed endothelial cells through miR-544a/FOXP1 and miR-379/FOXP2 pathways [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 10: 331-348.
- [52] Boeckel JN, Jaé N, Heumüller AW, et al. Identification and characterization of hypoxia-regulated endothelial circular RNA [J]. *Circ Res*, 2015, 117: 884-890.
- [53] Yang P, Qiu Z, Jiang Y, et al. Silencing of cZNF292 circular RNA suppresses human glioma tube formation *via* the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 63449-63455.