

## 综述

## 非编码RNA对血友病A的调控机制研究进展

张辉<sup>1</sup>, 李泓毅<sup>2</sup>, 王紫宁<sup>2</sup>, 卢学春<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>山西医科大学医学科学院, 山西太原 030001; <sup>2</sup>解放军总医院第二医学中心血液病科/国家老年疾病临床医学研究中心, 北京 100853

[中图分类号] R554<sup>+</sup>.1 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.1014.2023.1220

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 张辉, 李泓毅, 王紫宁, 等. 非编码RNA对血友病A的调控机制研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2024, 49(10): 1196-1200.

[收稿日期] 2023-07-31 [录用日期] 2023-10-07 [上线日期] 2023-12-20

**[摘要]** 血友病是一种遗传性凝血功能异常的出血性疾病, 包括血友病A和血友病B等不同类型, 主要临床表现为关节、肌肉和深部组织自发或者创伤后反复出血, 常幼年起病并累及终身。血友病的治疗以替代治疗为主, 补充相应的凝血因子, 此外还有双特异性单克隆抗体等非因子药物治疗以及基因治疗等。近年来, 血友病A发病机制的研究取得较大进展, 不再局限于凝血因子基因编码序列的突变是引起血友病的唯一原因。许多研究发现, 非编码RNA(ncRNA)的异常表达参与调控凝血因子VIII(FVIII)mRNA和蛋白的表达, 不仅解释了FVIII基因型正常的患者仍然表现为血友病A, 也为理解其他血友病类型的发病机制提供了新的方向。本文就ncRNA调控血友病A的机制研究进展进行综述。

**[关键词]** 血友病; 凝血因子; miRNA; 基因调控

**Research progress on the mechanism of non-coding RNA regulation of hemophilia A**Zhang Hui<sup>1</sup>, Li Hong-Yi<sup>2</sup>, Wang Zi-Ning<sup>2</sup>, Lu Xue-Chun<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>Academy of Medical Sciences, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China<sup>2</sup>Department of Hematology, the Second Medical Center/National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

\*Corresponding author, E-mail: luxuechun@301hospital.com.cn

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2020YFC2002706, 2021YFC2701700, 2021YFC2701703)

**[Abstract]** Hemophilia, which includes different types such as hemophilia A and hemophilia B, is a hemorrhagic disorder with inherited blood clotting abnormalities. The main clinical manifestations are spontaneous bleeding of joints, muscles and deep tissues or repeated bleeding after trauma. It often starts at an early age and affects the whole life. The treatment of hemophilia patients is still dominated by alternative therapy, supplementing the corresponding clotting factors. In addition, non-factor drug therapy is adopted such as bispecific monoclonal antibodies and gene therapy. In recent years, the research on the pathogenesis of hemophilia A has made great progress, which is no longer limited to the mutation of the coding sequence of coagulation factor gene as the only cause of hemophilia. Many studies have found that abnormal expression of non-coding RNA (ncRNA) is involved in the regulation of coagulation factor VIII (FVIII) mRNA and protein, which not only explains why patients with normal FVIII genotypes still present with hemophilia A, but also provides new directions for understanding the pathogenesis of other types of hemophilia. This paper reviews the research progress on the regulatory mechanism of ncRNA in hemophilia A.

**[Key words]** hemophilia; coagulation factors; miRNA; gene regulation

随着分子生物学和基因组学的快速进展, 非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)已被证实是细胞调控的关键因子, 虽不直接编码蛋白质, 但通过与其他分子相互作用, 可对基因表达和功能产生深远影

**[基金项目]** 国家重点研发计划(2020YFC2002706, 2021YFC2701700, 2021YFC2701703)

**[作者简介]** 张辉, 硕士研究生, 主要从事血液肿瘤及血液罕见病方面的研究

**[通信作者]** 卢学春, E-mail: luxuechun@301hospital.com.cn

响<sup>[1-2]</sup>。血友病 A 是一种主要由凝血因子 VIII (coagulation factor VIII, FVIII) 功能缺陷引起的遗传性出血障碍<sup>[3]</sup>, 长期以来备受关注。尽管传统的研究主要集中在蛋白质和基因层面, 但随着 ncRNA 在疾病发生和进展中的角色逐渐被揭示, 其在血友病 A 调控中的重要性日益凸显。本文对 ncRNA 在血友病 A 中的潜在调控机制进行综述, 以期为未来的疾病管理和治疗策略提供新的思路。

## 1 概要

**1.1 分类与定义** 血友病主要分为血友病 A 和血友病 B, 他们分别是由于 FVIII 或凝血因子 IX (FIX) 含量减少或活性降低而引起的遗传性出血性疾病。除这两种最常见的类型外, 血友病还包括血友病 C 和其他凝血因子缺乏相关的疾病。

**1.2 临床表现** 血友病主要临床表现为关节、肌肉和深部组织自发或者创伤后反复出血, 常幼年起病、累及终身。血友病的严重程度与血友病患者中观察到的出血类型之间存在相关性。健康人群的凝血因子活性范围为 64~197 U/dl, 重度、中度、轻度血友病患者的凝血因子活性范围分别为 <1 U/dl、1~5 U/dl、5~40 U/dl<sup>[4]</sup>。重度血友病患者自幼可有自发性出血, 常发生于关节或肌肉; 中度血友病患者外伤或小手术即可引发出血, 偶尔有自发性出血; 轻度血友病患者少有自发性出血, 出血通常只发生在重度创伤或大手术后。血友病患者若得不到及时有效的治疗会出现更为严重的软骨损伤、滑膜炎等症状, 进而发展为慢性衰弱性关节病。关节畸形、肌肉异常可导致患者日常活动受限, 生活质量降低<sup>[5]</sup>。

**1.3 流行病学** 所有血友病患者中, 血友病 A 占 80%~85%, 血友病 B 占 15%~20%。在男性人群中, 血友病 A 的发病率约为 1/5000, 血友病 B 的发病率约为 1/25 000<sup>[5]</sup>。女性血友病患者极其罕见。据流行病学调查显示, 我国血友病的患病率为 2.73/10 万<sup>[6]</sup>。

## 2 血友病 A 的治疗方法

目前血友病 A 仍然没有理想的治疗方案, 以针对 FVIII 蛋白缺乏或功能失调的替代治疗为主, 即补充相应的凝血因子制品, 但出血和难以坚持治疗方案仍然是许多患者面临的问题。双特异性单克隆抗体 Emicizumab (这种抗体可同时结合 FIXa 和 FX, 模拟 FVIII 的聚合作用) 的引入, 为血友病 A 的治疗带来了革命性的进展, 但其不是真正的 FVIII, 患者可能仍然需要 FVIII 或其他凝血治疗, 而 Emicizumab 与 FVIII 或其他凝血治疗联合使用时, 可能会增加血栓形成的风险<sup>[6]</sup>。基因治疗是目前唯一可能根治血友病的治疗手段, 其通过递送正常拷贝的基因或校正异常

的基因, 使内源性凝血因子持续表达。最常见的血友病基因疗法是使用腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV) 载体包装 FVIII 的基因, 通过载体递送到患者靶细胞内维持游离状态, 实现 FVIII 在靶器官内的持续表达<sup>[7]</sup>。肝脏是血友病基因治疗首选靶器官, 其有利于凝血因子全身分泌和载体高效转导。目前血友病 A 正在进行多项基因治疗试验, 但长期的安全性和有效性仍有待明确<sup>[8]</sup>。

## 3 ncRNA 调控血友病 A 的相关机制

### 3.1 miRNA

**3.1.1 miRNA 的结构功能** 近几十年来, ncRNA 因没有翻译成蛋白质的 RNA 转录物, 已经成为基因表达调控的关键角色<sup>[9]</sup>。同时, 小的 ncRNA 如 miRNA 参与了许多与人类疾病有关的过程<sup>[10]</sup>。miRNA 是小型内源性单链 ncRNA, 长度为 18~25 bp。在细胞内, miRNA 首先通过 RNA 聚合酶 II 与 DNA 结合生成 pri-miRNA, 再加工转运至细胞质内生成带有典型茎环结构的 pre-miRNA, 在细胞质中再次加工成为成熟的 miRNA。miRNA 通过与靶 mRNA 的 3'非翻译区 (UTR) 结合介导, 从而参与基因调控<sup>[11-12]</sup>, 已有许多证据证实了 miRNA 在生物学中的重要性以及 miRNA 调控异常与人类疾病之间的关联<sup>[13-14]</sup>。miRNA 通过 mRNA 降解、抑制翻译起始或参与抑制基因转录和转录后调控对蛋白质翻译发挥负调控作用<sup>[15]</sup>。

**3.1.2 miRNA 与血友病的关系** 近年来研究发现, 部分血友病 A 患者的 FVIII 基因编码序列没有任何突变, 约 1% 的重度血友病 A 患者和约 3% 的轻度或中度血友病 A 患者中, 未检测到 FVIII 突变<sup>[16-17]</sup>。此外, 血友病 A 患者的突变类型与血友病 A 严重程度之间无明显相关性, 因为在被诊断为轻、中或重度血友病 A 患者中可观察到相同的突变类型<sup>[18]</sup>。这些证据都表明, 血友病的发生除了 FVIII 突变外还存在其他的分子机制。在某些血友病 A 病例中, FVIII 基因是正常的, 通常表达的 FVIII 处于正常水平, 但实际上 FVIII 的表达处于低水平状态, 这种情况下, FVIII mRNA 3'UTR 靶向的 miRNA 可能是导致血友病 A 患者临床表现为 FVIII 缺乏表型的原因<sup>[19]</sup>。

人类基因中已知和已登记的 miRNA 大多会影响编码这些 miRNA 的基因的表达水平<sup>[17]</sup>。Rezaei 等<sup>[20]</sup>在 FVIII 基因中发现了两个 miRNA 候选区域, 并验证了这两个区域能够表达可能属于 miRNA 前体的发夹结构序列, 这些发夹结构可能经过 Dicer 酶剪切而形成成熟的 miRNA, 从而起到对 FVIII 基因调控的作用。

Jankowska 等<sup>[21]</sup>对 2 例无 FVIII 基因突变的轻度和中度血友病 A 患者的 miRNA 进行测序并进行实验验证, 确定了血友病 A 患者中较正常对照组上调的一组

miRNA。进一步研究表明,在这些miRNA中,miR-374b-5p和miR-30c-5p在能够表达FⅧ的人类肝脏中表达<sup>[22-23]</sup>。Jankowska等<sup>[21]</sup>进一步证实了过表达miR-374b-5p或miR-30c-5p可降低FⅧ的表达,且miR-30c-5p抑制剂恢复了部分FⅧ的表达。以上研究发现miRNA对FⅧ基因的表达水平发挥调控作用,miR-374b-5p和miR-30c-5p可同时调控FⅧ mRNA的表达和翻译。

Sarachana等<sup>[24]</sup>纳入了677例血友病A患者,检测发现其中23例未发生突变,5例仅存在同义突变,即超过4%患者的FⅧ蛋白的一级结构氨基酸序列没有变化,但仍表现为血友病,提示血友病A患者中可能有编码基因序列本身突变以外的机制存在。该研究还发现,FⅧ 3'UTR的931~937位点核苷酸序列与成熟miR-1246序列的2~8位点的反向互补序列完全匹配,表明FⅧ mRNA是miR-1246的假定靶点。与健康供体相比,血友病A患者血液样本中miR-1246上调,在没有抑制物的血友病A患者中,miR-1246的表达水平较有抑制物的患者高10倍以上<sup>[24]</sup>。

另有研究发现,FⅧ靶向miRNA是一组参与基因调控的RNA,可下调FⅧ的表达,导致FⅧ基因型正常的个体表现为血友病A,并增加FⅧ突变血友病A患者的严重程度。Jankowska等<sup>[25]</sup>发现,miR-19b-3p和miR-186-5p在FⅧ编码序列发生突变的重度血友病A患者中上调。Sarachana等<sup>[24]</sup>对9例血友病A患者进行了芯片分析,以验证miRNA上调或下调与血友病A病理相关的假设,miR-4521、miR-1246和miR-181d在血友病A患者中的表达水平明显升高。Willeit等<sup>[23]</sup>研究miRNA在血友病A患者中对FⅧ的调控作用,发现血友病A患者miR-128-3p、let-7i-5p水平下降,miR144-5p、miR-374b-5p、miR-30c-5p、miR-6803-3p、miR-15b-3p、miR-483-3p水平升高。以上研究结果证实了miRNA在调控FⅧ表达方面的重要作用。此外,越来越多的证据表明miRNA调控异常与FⅧ缺陷相关,这为miRNA在血友病治疗中的应用提供了一种可能<sup>[26]</sup>。表1总结了部分已有文献报道的血友病A患者中具有显著差异的miRNA。

表1 血友病A患者中具有显著差异的miRNA

Tab.1 miRNA with significant differences in hemophilia A patients

上调	下调
miR-19a-3p, miR-30b-5p, miR-19b-3p, miR-30c-5p, miR-93-3p, miR-29c-3p, miR-5701,	let-7f-5p, miR-221-3p, miR-320a,
miR-424-5p, miR-151a-5p, miR-361-5p, miR-425-5p, miR-16-5p, miR-324-5p, miR-125a-5p,	miR-106b-3p, miR-93-5p, miR-196b-5p,
miR-191-5p, miR-664b-3p, miR-378a-5p, miR-454-3p, miR-29a-3p, miR-421, miR-18a-5p,	let-7g-5p, miR-378a-3p, miR-149-5p,
miR-3607-3p, miR-128-3p, miR-374b-5p, miR-186-5p, miR-144-5, miR-374b-3p, miR-4521,	miR-128-3p, let-7i-5p
miR-1246, miR-181d, miR-6803-3p, miR-15b-3p, miR-483-3p, miR-15b-3p, miR-5581-3p,	
miR-542-3p, miR-1297, miR-30e-3p, miR-34-5p, miR-532-5p, miR-7-5p, miR-874-3p	

Jankowska等<sup>[27]</sup>发现,miR-208a、miR-351和miR-125a直接靶向小鼠FⅧ mRNA的3'UTR,并证实这些miRNA可降低小鼠FⅧ mRNA的表达水平。在内源性表达FⅧ基因并产生FⅧ蛋白的小鼠细胞中,这些miRNA的异位表达下调了FⅧ mRNA和蛋白的表达,表明在小鼠中,miRNA也可下调FⅧ,与人类血友病A患者中观察到的结果一致<sup>[25]</sup>。

### 3.2 长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)

#### 3.2.1 lncRNA的结构功能

lncRNA是一类转录本长度超过200个核苷酸的ncRNA,占人类基因组ncRNA的70%以上<sup>[28]</sup>。绝大部分lncRNA由多个外显子剪接而成,且末端为多聚腺苷化。lncRNA的转录由组蛋白第三亚基四号赖氨酸的三甲基化(H3K4me3)启动,由RNA聚合酶II介导完成,其合成方式类似于mRNA,但未翻译成蛋白质<sup>[29]</sup>。

lncRNA与miRNA的相互作用是lncRNA/miRNA/mRNA网络发挥作用的基础。lncRNA可通过以下3种方式调控miRNA:(1)由于结构高度的相似性,lncRNA在胞内剪切的过程中将自身作为miRNA的前

体,参与特定miRNA的加工成熟,使其表达上调<sup>[30]</sup>。(2)lncRNA扮演miRNA海绵(miRNA-sponges)诱饵分子的角色,通过自身3'UTR与相对应miRNA实现互补或非完全互补以吸附一些特定的miRNA,从而阻断miRNA对下游基因的调控,使其与靶标分离并抑制其功能表达,即发挥竞争性内源性RNA(ceRNA)的作用,抑制miRNA的表达,在一定程度上使靶基因的功能得以恢复。(3)lncRNA与miRNA竞争性结合靶基因mRNA的3'UTR,间接抑制miRNA对靶基因的负向调控,增强其稳定性<sup>[31]</sup>。

#### 3.2.2 lncRNA与血友病的关系

Liu等<sup>[32]</sup>对17例FⅧ内含子22倒置血样进行RNA测序,发现共有344个mRNA转录本和20个lncRNA转录本差异表达,其中200个mRNA和12个lncRNA上调,144个mRNA和8个lncRNA下调;差异表达mRNA的基因本体(GO)功能富集分析结果显示,与免疫刺激相关的基因,特别是与T细胞活化相关的基因表达上调,而与免疫负性反应相关的基因表达下调;共表达分析结果显示,lncRNA差异表达的靶向上调基因也与免疫激

活,尤其是T细胞激活密切相关。

Naderi等<sup>[33]</sup>证实, FⅧ中存在两个lncRNA序列(NONHSAT139215和NONHSAT139219),这两个序列在重度血友病A患者中的表达较正常对照组下调,且血友病A患者lncRNA的异常表达可能与血友病严重程度相关。该研究结果表明,位于FⅧ基因的两个lncRNA序列表达下调可能在重度血友病A的发展中起重要作用,对这些lncRNA进行进一步研究可为血友病生物学研究提供有用的见解。

### 3.3 小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)

**3.3.1 siRNA的结构功能** siRNA即长度为21~23 nt的双链RNA序列,由Dicer酶切割长双链RNA(double strands RNA, dsRNA)形成,其通过RNA干扰(RNAi)生物过程介导转录后沉默。siRNA导入到RNA诱导沉默复合体(RISC)中,RISC中的核心组分会利用siRNA的一个链作为指导,寻找与其互补的mRNA。当找到完全互补的目标mRNA后,RISC会切割该mRNA,从而导致其降解。siRNA结合靶mRNA配对的任何区域且需要完全互补配对,结合特异性高,可使结合的mRNA被切割和降解,从而抑制或影响靶基因的表达,进而降低蛋白的表达水平<sup>[34]</sup>。

**3.3.2 siRNA与血友病的关系** Fitusiran是一种正在研究的可皮下给药的siRNA治疗剂,利用天然细胞RNAi机制来切割和降解抗凝血酶(AT)mRNA并降低AT水平<sup>[35]</sup>。该药物目前处于Ⅲ期临床试验阶段,结果显示,其有可能增加凝血酶的产生,从而增强止血和改善生活质量,同时减轻总体治疗负担<sup>[36]</sup>。有或没有外源性凝血因子抑制性抗体的血友病A和B受试者的晚期临床试验报告证实Fitusiran在预防出血事件方面有效,这为中、重度血友病患者提供了一种新的预防性治疗选项<sup>[37]</sup>。

## 4 总结与展望

近年来,血友病的研究取得了显著进展。血友病患者的预期寿命和生活质量得到了显著提高和改善,其生活质量接近健康同龄人。但血友病的发病机制不仅是因为凝血因子基因突变,还存在许多ncRNA参与凝血因子异常转录调控的机制。miRNA通过与目标mRNA的3'UTR结合,能够在转录起始、转录起始后以及转录延伸等不同阶段调节mRNA和蛋白的表达和翻译,相关miRNA的异常表达可下调FⅧmRNA和蛋白的表达<sup>[14]</sup>。lncRNA可能通过调控miRNA的表达和功能起到对FⅧmRNA的调控作用,主要包括3种方式:作为miRNA的前体,作为miRNA的海绵,或与miRNA竞争性结合靶基因mRNA。siRNA导入到RISC中并利用其指导链找到

并切割目标mRNA是RNAi过程的核心部分,siRNA治疗剂Fitusiran通过RNAi机制切割和降解ATmRNA并降低AT水平,从而起到改善凝血功能的作用。

血友病治疗的费用昂贵,限制了部分血友病患者的治疗。在全球范围内,约70%的血友病患者无法获得有效治疗。他们的预期寿命缩短,关节及其他部位出血导致其生活质量严重下降。ncRNA转录调控是一个前景广阔、发展迅速的前沿领域,其在血友病领域的相关研究为未来提供了更多的可能性。针对这些ncRNA的潜在调控机制的深入研究可能为诊断、预后和治疗血友病提供新的策略。此外,通过深入了解ncRNA与FⅧ基因的相互作用,可能为设计新型药物或治疗策略提供参考。

### 【参考文献】

- [1] 陈宇恒,王正龙.长链非编码RNA在动脉粥样硬化"损伤-应答"中的作用机制研究进展[J].解放军医学杂志,2022,47(6):614-624.
- [2] 廖银友,张丕红.竞争性内源性RNA在创面愈合中作用的研究进展[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(1):84-89.
- [3] 周日兴,董永盛,周旺标.自体富血小板血浆治疗1例血友病A患者膝关节术后慢性难愈合创面[J].中华烧伤与创面修复杂志,2022,38(4):369-372.
- [4] 沈悌,赵永强.血液病诊断及疗效标准[M].4版.北京:科学出版社,2018:213-215.
- [5] 杨仁池.中国血友病管理指南(2021年版)[M].北京:中国协和医科大学出版社,2021:793-799.
- [6] Young G, Liesner R, Chang T, et al. A multicenter, open-label phase 3 study of emicizumab prophylaxis in children with hemophilia A with inhibitors[J]. Blood, 2019, 134(24): 2127-2138.
- [7] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组,中国血友病协作组.血友病诊断与治疗中国专家共识(2017年版)[J].中华血液学杂志,2017,38(5):364-370.
- [8] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组,中国血友病协作组.血友病治疗中国指南(2020年版)[J].中华血液学杂志,2020,41(4):265-271.
- [9] Gu K, Mok L, Chong MMW. Regulating gene expression in animals through RNA endonucleolytic cleavage[J]. Heliyon, 2018, 4(11): e00908.
- [10] Ferrero G, Cordero F, Tarallo S, et al. Small non-coding RNA profiling in human biofluids and surrogate tissues from healthy individuals: description of the diverse and most represented species [J]. Oncotarget, 2018, 9(3): 3097-3111.
- [11] O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, et al. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2018, 9: 402.
- [12] Bartel DP. Metazoan microRNAs[J]. Cell, 2018, 173(1): 20-51.
- [13] Sun T, Li MY, Li PF, et al. MicroRNAs in cardiac autophagy: small molecules and big role[J]. Cells, 2018, 7(8): 104.
- [14] Oliveto S, Mancino M, Manfrini N, et al. Role of microRNAs in translation regulation and cancer[J]. World J Biol Chem, 2017, 8(1): 45-56.
- [15] Imedio L, Cristobal I, Rubio J, et al. MicroRNAs in rectal cancer: functional significance and promising therapeutic value[J]. Cancers

- (Basel), 2020, 12(8): 2040.
- [16] Klopp N, Oldenburg J, Uen C, *et al.* 11 hemophilia A patients without mutations in the factor VIII encoding gene[J]. *Thromb Haemost*, 2002, 88(2): 357-360.
- [17] Johnsen JM, Fletcher SN, Huston H, *et al.* Novel approach to genetic analysis and results in 3000 hemophilia patients enrolled in the *My Life, Our Future* initiative[J]. *Blood Adv*, 2017, 1(13): 824-834.
- [18] El-Maarri O, Herbiniaux U, Graw J, *et al.* Analysis of mRNA in hemophilia A patients with undetectable mutations reveals normal splicing in the factor VIII gene[J]. *J Thromb Haemost*, 2005, 3(2): 332-339.
- [19] Rezaei H, Motovali-Bashi M, Khalilian S. Identification of novel miRNAs in the F8 gene via bioinformatics tools[J]. *Iran J Biotechnol*, 2021, 19(2): e2700.
- [20] Rezaei H, Motovali-Bashi M, Mowla SJ. MicroRNA and hemophilia-A disease: bioinformatics prediction and experimental analysis[J]. *Cell J*, 2021, 23(3): 341-348.
- [21] Jankowska KI, McGill J, Pezeshkpoor B, *et al.* Clinical manifestation of hemophilia A in the absence of mutations in the F8 gene that encodes F VIII: role of microRNAs[J]. *Transfusion*, 2020, 60(2): 401-413.
- [22] Soronen J, Yki-Järvinen H, Zhou Y, *et al.* Novel hepatic microRNAs upregulated in human nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Physiol Rep*, 2016, 4(1): e12661.
- [23] Willeit P, Skrobilin P, Kiechl S, *et al.* Liver microRNAs: potential mediators and biomarkers for metabolic and cardiovascular disease? [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(43): 3260-3266.
- [24] Sarachana T, Dahiya N, Simhadri VL, *et al.* Small ncRNA expression-profiling of blood from hemophilia A patients Identifies miR-1246 as a potential regulator of factor 8 gene[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132433.
- [25] Jankowska KI, McGill J, Pezeshkpoor B, *et al.* Further evidence that microRNAs can play a role in hemophilia A disease manifestation: F8 gene downregulation by miR-19b-3p and miR-186-5p[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 669.
- [26] Jankowska KI, Sauna ZE, Atreya CD. Role of microRNAs in hemophilia and thrombosis in humans[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3598.
- [27] Jankowska KI, Chattopadhyay M, Sauna ZE, *et al.* A foundational study for normal F8-containing mouse models for the miRNA regulation of hemophilia A: identification and analysis of mouse miRNAs that downregulate the murine F8 gene[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(16): 5621.
- [28] Bridges MC, Daulagala AC, Kourtidis A, *et al.* LNCcation: lncRNA localization and function[J]. *J Cell Biol*, 2021, 220(2): e202009045.
- [29] Kindgren P, Ard R, Ivanov M, *et al.* Transcriptional read-through of the long non-coding RNA SVALKA governs plant cold acclimation [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4561.
- [30] Chen L, Zhou Y, Li H, *et al.* lncRNA, miRNA and lncRNA-miRNA interaction in viral infection[J]. *Virus Res*, 2018, 257: 25-32.
- [31] Fan CN, Ma L, Liu N, *et al.* Systematic analysis of lncRNA-miRNA-mRNA competing endogenous RNA network identifies four-lncRNA signature as a prognostic biomarker for breast cancer[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 264.
- [32] Liu W, Lyu C, Wang W, *et al.* Risk factors for inhibitors in hemophilia A based on RNA-seq and DNA methylation[J]. *Res Pract Thromb Haemost*, 2022, 6(6): e12794.
- [33] Naderi N, Namvar A, Amani N, *et al.* Analysis of long non-coding RNA expression in hemophilia A patients[J]. *Hematology*, 2019, 24(1): 255-262.
- [34] Adams D, Gonzalez-Duarte A, O'Riordan WD, *et al.* Patisiran, an RNAi therapeutic, for hereditary transthyretin amyloidosis[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(1): 11-21.
- [35] Pasi KJ, Rangarajan S, Georgiev P, *et al.* Targeting of antithrombin in hemophilia A or B with RNAi therapy[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(9): 819-928.
- [36] Young G, Lenting PJ, Croteau SE, *et al.* Antithrombin lowering in hemophilia: a closer look at fitusiran[J]. *Res Pract Thromb Haemost*, 2023, 7(4): 100179.
- [37] Boyce S, Rangarajan S. RNAi for the treatment of people with hemophilia: current evidence and patient selection[J]. *J Blood Med*, 2023, 14: 317-327.