

# 脑缺血与长链非编码 RNA 的研究进展

袁影 尤艳利 靳兰洁 周爽

【中图分类号】 R743 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2016)06-0459-03

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2016.06.020

长链非编码 RNA(lncRNA)缺少完整的开放阅读框,无蛋白质编码功能,其转录本长度超过 200nt<sup>[1]</sup>,在总非编码 RNA(ncRNA)中占有很大的比例。lncRNA 的失调与人类疾病密切相关,目前的 lncRNA 研究覆盖了神经系统疾病、心脑血管疾病、肿瘤等疾病的生理和病理过程。脑缺血危害极大,病死率较高,多数幸存的患者会留下终身残疾。随着现代生活水平的上升,脑缺血发病率也呈递增趋势。研究表明,lncRNA 在动脉粥样硬化、脑卒中等血管相关疾病中发挥了重要作用<sup>[2]</sup>。本研究针对 lncRNA 在脑缺血中的最新研究进展综述如下。

## 1 lncRNA 概述

lncRNA 存在于生物的细胞核或胞浆内,不编码蛋白或者只编码很短多肽的基因转录产物。目前,关于 lncRNA 来源尚未形成统一的说法,公认的来源途径主要有蛋白编码基因突变、染色质重组、非编码基因的反转录作用、非编码 RNA 内部片段的重复以及转座因子的插入<sup>[3]</sup>。根据 lncRNA 在基因组上的位置将 lncRNA 分为反义长链非编码 RNA(Antisense lncRNA)、内含子非编码 RNA(Intronic transcript)、lincRNA(Large intergenic noncoding RNA)、启动子相关 lncRNA(Promoter-associated lncRNA)、非翻译区 lncRNA(UTR associated lncRNA)<sup>[1]</sup>。

RNA 是一种输出与输入信号,起到调控路径和信号内部转换的媒介作用。4 个核心核苷酸和多种化学修饰的核苷酸调节并稳定着 RNA 的结构。lncRNA 通常较长,通过

剪接形成 polyA 尾巴与启动子结构,折叠后形成热力学稳定的二级或更高级结构而行使其功能。lncRNA 较编码 RNA 更易受物种进化的影响,序列上保守性较低,只有 10%左右的 lncRNA 能在除人类外其他生物的基因组中发现<sup>[4]</sup>,但在其分子内部又有相对保守的短序列,与表达具有重要的生理生化功能密切相关。因此,lncRNA 有着特定的二级空间结构、序列保守性低但内部短序列相对保守、发育特异性、分化中动态表达以及有多种剪切形式等特点<sup>[5]</sup>。RNA 不仅仅只承担遗传信息中间载体的辅助性角色,而是更多地承担了各种调控功能。同样地,lncRNA 在遗传和转录层面也有着复杂的生物学功能。近些年研究得出 lncRNA 在分子水平上的功能主要包括以下几方面:(1)募集染色质修饰蛋白调控基因表达。有研究发现,由 X 染色体转录出的 X 染色体失活特异转录本能够募集多梳抑制复合体 2,从而抑制 X 染色体上的基因转录,使哺乳类雌性动物其中 1 条 X 染色体的遗传性状失活,达到维持雌雄两性生物基因表型一致的目的<sup>[6]</sup>。另外,X 染色体以外的染色体修饰相关 lncRNA 也被陆续发现,如 Kcnq1 反义转录本、Igf2 反义转录本<sup>[7]</sup>;(2)经碱基互补与 DNA 或某些 RNA 结合,通过修饰启动子结构、改变剪切位点以及掩盖结合位点等方式在转录及转录后水平发挥调节功能<sup>[1]</sup>。例如,一种 Alu 序列 lncRNA 通过与 RNA 聚合酶 II 相结合,调控转录过程,达到基因抑制的目的<sup>[8]</sup>;(3)直接影响蛋白质的功能。主要方式有改变胞质定位、与特定蛋白结合以及形成核酸蛋白质复合体<sup>[9]</sup>。如 lncRNA-P21 被发现可通过抑制 RNA 稳定蛋白 Hu 抗原 R 的活性,从而影响 junB 原癌基因与钙黏着相关蛋白的翻译<sup>[10]</sup>。

基金项目:国家自然科学基金(NO. 81574059,NO. 81503647)

作者单位:200433 上海,第二军医大学长海医院中医系[袁影 尤艳利 靳兰洁 周爽(通信作者)]

## 2 lncRNA 与脑缺血

脑缺血是一组由多种原因导致脑局部或多部位供血不足,进而引起相应神经系统症状的疾病。缺血性脑卒中是此类中最常见的疾病。缺血核心区和半影区神经细胞的坏死和凋亡情况及缺血损伤后血管再生、神经修复情况将严重影响到脑卒中患者的预后。随着对 lncRNA 的了解深入,其与脑缺血的研究逐渐增多。有研究发现,局部脑缺血后诱导大脑中一系列 lncRNA 表达模式的改变,脑缺血与 lncRNA 有显著关联<sup>[11]</sup>。

### 2.1 lncRNA 与细胞损伤和凋亡

脑缺血后的再灌注损伤指缺血区受损脑细胞恢复血流后损伤继续加重,脑缺血在致残因素中占首位,脑缺血后的再灌注损伤危害较大,因此有效控制再灌注损伤对脑缺血患者大有裨益。Thai 等<sup>[12]</sup>研究发现一种名为 SCAL1 的 lncRNA 敲除后受损细胞内毒素增多,细胞生存率明显降低,表明 SCAL1 对细胞生存有重要作用。NF- $\kappa$ B 通路是一种与缺血再灌注损伤密切相关的细胞分子通路,损伤发生时 NF- $\kappa$ B 通路激活可加剧血脑屏障完整性的缺失,某些 lncRNA、uc007prv.1 和 ENS-MUST00000170410 可以负反馈调节 NF- $\kappa$ B 通路。血脑屏障遭到破坏后许多炎症因子通过通透性增大的血管使细胞损伤进一步加重,血管内皮细胞中特定 lncRNA 表达增多,调节细胞损伤作用<sup>[15]</sup>。EDA (extradomainA) 是一个选择性剪接外显子编码 III 型重复额外域,与组织损伤反应密切相关。有研究显示某些 lncRNA 与 EDA 产生有关<sup>[14]</sup>。

细胞凋亡是在一系列基因激活、表达以及调控等的作用下的主动过程。脑缺血后损伤、坏死细胞主要位于缺血中心区,凋亡细胞位于周围区。脑细胞凋亡并非坏死,在缺血半影区或者梗死区域许多神经元可在缺血后一段时间后具有复原的潜能。抑制细胞凋亡对脑卒中患者的预后有一定的帮助,有报道称足三里电针治疗可以抑制细胞凋亡,帮助改善脑缺血<sup>[15]</sup>。p53 是一种肿瘤抑制基因,其编码的蛋白质是控制细胞周期启动的转录因子,当细胞受损又得不到修复时 P53 蛋白便参与启动过程使受损细胞在细胞凋亡中死去。P53 在缺血性脑卒中时表达量迅速增加<sup>[16]</sup>。最近有研究显示,lncRNA-RoR 通过与 hnRNPI 结合,负向调节应激诱导下的 hnRNPI 与 p53mRNA 结合导致的 p53 的表达,从而证明了 lncRNA-RoR 间接调控脑缺血后细胞凋亡<sup>[17]</sup>。吴庚泽<sup>[18]</sup>通过研究发现,lincRNA-p21 可以与 MDM2 蛋白直接结合,抑制 p53 与 MDM2 的结合进而影响 P53 的功能。

### 2.2 lncRNA 与血管新生

血管内皮细胞 (Vascular endothelial cell, VEC) 是衬贴于血管内腔面的单层扁平细胞,其激活、增殖、迁移是血管生成必不可少的中间过程。Michalik 等<sup>[13]</sup>发现脑缺血后内皮细胞受损,血管内皮细胞高表达的特定 lncRNA 如 linc00493、Meg3、MALAT1 表达增多,可推测其与内皮细胞

的损伤和修复有关。同时对小鼠的 MALAT1 敲除后发现血管基底内皮细胞的细胞周期受到抑制,基底细胞数量变少、细胞迁徙并发芽堵塞新生血管,由此可推断 MALAT1 参与调节血管新生。

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 具有促进血管内皮细胞增殖的作用,其在动物和成人正常组织中合成水平很低,但在胚胎和有血管新生的组织中合成水平较高,在血管新生中被认为有促进毛细血管融合、大血管生成的作用。VEGF 有 VEGF-A、-B、-C、-D、及-E 等型,其中 VEGFA 具有促进内皮细胞有丝分裂、增加血管内皮细胞通透性作用。VEGF 受体 R-1、R-2、R-3 分布于血管内皮细胞表面。陈治等<sup>[19]</sup>人阐述了 VEGFR-1 促进血管发生及再生中的作用机制。Zhou 等人<sup>[20]</sup>通过研究发现非编码 RNA 母本转录本 3 (maternally expressed 3, Meg3) 能够显著影响 VEGF-A 和 VEGFR-1 的表达,由此表明 Meg3 与血管新生密切相关。

一氧化氮 (NO) 是与血管相关的重要信使分子和细胞生长调节剂,一氧化氮合酶 (NOS) 是生成 NO 的限速因子,通常用 NOS 来定位 NO 的分布。内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 是存在于内皮细胞的 NOS, Qian 等<sup>[21]</sup>阐明了 NO 和 eNOS 在内皮细胞中的机理。Fish 等<sup>[22]</sup>报道长非编码 RNA 3' UTR 通过影响 eNOS 的生成起到调节血管的作用,研究阐明了其机制为 eNOS 3' UTR 结合的多蛋白复合物可使 eNOS mRNA 的稳定下降,进一步干扰其调控血管形成的转录过程。

### 2.3 lncRNA 与神经修复

现代研究表明中枢神经受到缺血损伤后机体会触发一系列反应来促进损伤神经的恢复。Huang 等<sup>[23]</sup>人阐述了机体引起自噬进行神经保护的作用过程。Sawada 等<sup>[24]</sup>发现缺血后部分内源性神经干细胞 (neural progenitor cell, NPC) 迁向缺血区并渐渐分化为神经元和胶质细胞。有研究发现 30 多种 lncRNA 在成熟神经元中高表达,其中 lncRNA N1 参与调控基因表达及 NPC 的分化, lncRNA N2 可以间接介导神经细胞的发生<sup>[25]</sup>。转录因子 SOX2 的表达能够促进 NPC 向神经细胞分化,有实验发现 lncRNA RMST 能够结合在 SOX2 靶基因的启动子区,影响 NPC 的分化方向<sup>[26]</sup>。近年有研究表明 lncRNA 还可以通过调节神经再生过程中的靶蛋白进而调控神经元的再生和分化<sup>[27]</sup>。

胶质细胞广泛分布于中枢和周围神经系统中,具有支持和引导神经元的迁移,参与神经系统的修复和再生作用分为星形胶质细胞、少突胶质细胞和小胶质细胞。少突胶质细胞的主要功能是包绕轴突、形成髓鞘结构以及协助神经电信号传递,进而维持和保护神经元的正常功能。MERCER 等<sup>[28]</sup>人研究发现 lncRNA SOXOT 可与具有调控少突胶质细胞成熟的转录因子 SOX8 共用一个启动子,进而影响到少突胶质细胞的转录,表明 SOXOT 调控少突胶质细胞成熟。有实验对损伤后大鼠坐骨神经的 lncRNA 和 mRNAs 表达谱分析

后发现 105 个 lncRNA 出现差异性表达,胶质细胞迁移受到影响,表明 lncRNA 可调节胶质细胞的迁移。另外,降低细胞内 lncRNA BC089918 表达水平后神经细胞轴突变长,实验说明 lncRNA 对神经再生有抑制作用<sup>[29]</sup>。

### 3 问题与展望

综上所述,lncRNA 与脑缺血密切相关。lncRNA 的结构和功能有高度多样性,在多种人类疾病中具有重要作用。我们已经初步了解 lncRNA 的调控机制以及它们与脑缺血的关系。lncRNA 的调控机制复杂、种类繁多,而目前的研究只是冰山一角,我们尚需对疾病发生发展过程中 lncRNA 所介导的基因表达调控网络及其作用机制进一步探索,现今在脑缺血领域中尚缺乏突破性的研究成果或发现与某特定疾病相关的 lncRNA,lncRNA 与脑缺血的研究潜力巨大,期望面向研究 lncRNA 的创新能力不断涌现,以支持该领域的迅速发展。

### 参 考 文 献

- [1] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long noncoding RNAs: Insights into functions[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3): 155-159.
- [2] Wapinski O, Chang HY. Long noncoding RNAs and human disease[J]. *Trends Cell Biol*, 2011, 21(21): 354-361.
- [3] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2009, 136(4): 629-641.
- [4] Lipovich L, Johnson R, Lin CY. MicroRNA 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.
- [5] Niazi F, Valadkhan S. Computational analysis of functional long noncoding RNAs reveals lack of peptide-coding capacity and parallels with 3'UTRs[J]. *RNA*, 2012, 18(4): 825-843.
- [6] Wutz A. Gene silencing in X-chromosome inactivation: advances in understanding facultative heterochromatin information [J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(8): 542-553.
- [7] Mohammad F, Mondal T, et al. Kcnq1ot1 noncoding RNA mediates transcriptional gene silencing by interacting with Dnmt1 [J]. *Development*, 2010, 137(15): 2493-2499.
- [8] Yakovchuk P, Goodrich JA, Kugel JF. B2 RNA and Alu RNA repress transcription by disrupting contacts between RNA polymerase II and promoter DNA within assembled complexes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(14): 5569-5574.
- [9] Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(13): 1494-1504.
- [10] Yoon JH, Abdelmohsen K, Srikantan S, et al. LincRNA-p21 suppresses target mRNA translation [J]. *Mol Cell*, 2012, 47(4): 648-655.
- [11] Dharap A, Nakkav P, Vemuganti R. Effect of focal ischemia on long noncoding RNAs [J]. *Stroke*, 2012, 43(10): 2800-2802.
- [12] Thai P, Statt S, Chen CH, et al. Characterization of a novel long noncoding RNA, SCAL 1, induced by cigarette smoke and elevated in lung cancer cell lines [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49(2): 204-211.
- [13] Michalik KM, You X, Manavski Y, et al. Long noncoding RNA MALA T1 regulates endothelial cell function and vessel growth [J]. *Circ Res*, 2014, 114(9): 1389-1397.
- [14] Liu Y, Li G, Lu H, et al. Expression profiling and ontology analysis of long noncoding RNA in postischemic heart and their implied roles in ischemia/reperfusion injury [J]. *Gene*, 2014, 543(1): 15-21.
- [15] Luwen Zhu, Qiuxin Chen, et al. Electroacupuncture affects cell apoptosis and expression of nr2b protein in ischemic cortex after permanent cerebral ischemia in rats [J]. *J Integr Med*, 2014, 12(3): 241.
- [16] Puyal J, Ginot V, Clarke PG. Multiple interacting cell death mechanisms in the mediation of excitotoxicity and ischemic brain damage: a challenge for neuroprotection [J]. *Prog Neurobiol*, 2013, 105(6): 24-48.
- [17] Zhang A, Zhou N, Huang J, et al. The human long noncoding RNA-RoR is a p53 repressor in response to DNA damage [J]. *Cell Research*, 2013, 23(3): 340-350.
- [18] 吴庚泽. 长链非编码 RNA-p21(lincRNA-p21)在动脉粥样硬化中的作用和分子机制研究[D]. 第三军医大学, 2014.
- [19] 陈治, 杜钰. 血管内皮细胞特异性受体在肿瘤血管靶向治疗中的应用 [J]. *世界华人消化杂志*, 2001, 9(6): 702-705.
- [20] Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA: A tumor suppressor [J]. *J Mol Endocrinol*, 2012, 48(3): R45-R53.
- [21] Qian J, Fulton D. Post-translational regulation of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelium [J]. *Front Physiol*, 2012, 4(4): 347.
- [22] Fish JE, Matouk CC, Yeboah E, et al. Hypoxia inducible expression of a natural cisantisense transcript inhibits endothelial nitric oxide synthase [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(21): 15652-15666.
- [23] Xiao-ping Huang, Huang Ding. Autophagy in cerebral ischemia and the effects of traditional Chinese medicine [J]. *J Integr Med*, 2015, 13(5): 289-296.
- [24] Sawada M, Sawamoto K. Mechanisms of neurogenesis in the normal and injured adult brain [J]. *Keio J Med*, 2012, 62(1): 13-28.
- [25] Minger SL, Ekonomou A, Carta EM, et al. Endogenous neurogenesis in the human brain following cerebral infarction [J]. *Regen Med*, 2006, 2(1): 69-74.
- [26] Ng SY, Bogu GK, Soh BS, et al. The long noncoding RNA RMST interacts with SOX2 to regulate neurogenesis [J]. *Mol Cell*, 2013, 51(3): 349-359.
- [27] Ramos AD, Diaz A, Nellore A, et al. Integration of genome-wide approaches identifies lncRNAs of adult neural stem cells and their progeny in vivo [J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(5): 616-628.
- [28] Mercer TR, Qureshi IA, Gokhan S, et al. Long noncoding RNAs in neuronal glial fate specification and oligodendrocyte lineage maturation [J]. *BMC Neurosci*, 2010, 11(1): 14-28.
- [29] Yu B, Zhou S, Hu W, et al. Altered long noncoding RNA expressions in dorsal root ganglion after rat sciatic nerve injury [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 534(1): 117-122.