

DOI: 10.13376/j.cblls/2017025

文章编号: 1004-0374(2017)02-0189-05

## 长链非编码RNA与缺血缺氧性疾病的研究进展

袁影, 尤艳利, 靳兰洁, 周爽\*

(第二军医大学附属长海医院中医系, 上海 200433)

**摘要:** 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是指转录本长度超过 200 nt 的不编码蛋白质的 RNA。lncRNA 在细胞增殖分化、个体发育、干细胞活性与代谢等几乎所有重要生命活动中发挥关键的调控作用, 与多种疾病的发生密切相关。近年研究表明, lncRNA 在多种器官缺血缺氧的发生及恢复中发挥着重要的作用。现探讨 lncRNA 在缺血缺氧性疾病中的调控机制, 重点介绍 lncRNA 与缺血性脑卒中和缺血性心脏病的关系, 以期对缺血缺氧相关心脑血管疾病的早期预防、诊断和治疗提供新策略。

**关键词:** 长链非编码 RNA; 缺氧缺血; 疾病

**中图分类号:** Q752; R741 **文献标志码:** A

## Advances of long non-coding RNA in ischemic and hypoxic diseases

YUAN Ying, YOU Yan-Li, JIN Lan-Jie, ZHOU Shuang\*

(Department of Traditional Chinese Medicine, Changhai Hospital  
of Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**Abstract:** Long non-coding RNA (lncRNA) is a group of non-protein coding RNA molecule, and their transcripts are more than 200 nucleotide in length. lncRNAs play a key regulatory role in a large range of biological processes, such as cell proliferation and differentiation, individual development, stem cell activity and metabolism, and lncRNA dysfunction can lead to diverse human diseases. Recent studies have shown that lncRNAs are associated with the occurrence and recovery of multiple organ ischemia and hypoxia. This paper reviews regulation mechanism of lncRNAs in ischemic and hypoxic diseases and focuses on ischemic stroke and ischemic heart disease, providing a new strategy for early prevention, diagnosis and treatment of hypoxic ischemic cardio-cerebrovascular disease.

**Key words:** lncRNA; hypoxia and ischemia; diseases

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 通常指长度大于 200 nt 且不能编码蛋白质的 RNA。越来越多文献表明<sup>[1]</sup>, lncRNA 参与基因表达调控、剂量补偿、基因组印记、X 染色体沉默、染色质修饰、转录激活和干扰以及细胞核内运输等过程。lncRNA 的失调与人类疾病密切相关。目前的 lncRNA 研究覆盖了很多领域, 如肿瘤、血液系统疾病、心脑血管疾病。脑、心脏、肝脏等各器官常常因缺血缺氧导致不同程度的损伤。本文重点就 lncRNA 的概况及其在心脑血管缺血缺氧性疾病中的应用作一综述。

### 1 lncRNA 的概述

lncRNA 存在于细胞核或胞质内, 不编码蛋白质或者只编码很短的多肽。lncRNA 来源尚未形成统一的说法, 公认的来源途径主要有蛋白质编码基因突变、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

收稿日期: 2016-05-28; 修回日期: 2016-07-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(81574059, 81503647)

\*通信作者: E-mail: zhoushuang8008@163.com

入<sup>[2]</sup>。lncRNA 包括自然反义转录本 (natural antisense transcript, NAT)、基因间长链非编码 RNA (long intergenic noncoding RNA, lincRNA)、3' 非翻译区相关 RNA 转录本 (3'UTR-associated RNA transcript, uaRNA)、增强子 RNA (enhancer RNA, eRNA)、假基因 (pseudogene)、竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 等<sup>[1-6]</sup>。

lncRNA 较小分子 ncRNA 有更长的核苷酸链, 在其内部可以进行不同的折叠, 使之具有二级空间结构, 这种特别的构造能够为其他分子提供大量的结合位点。lncRNA 的保守性不如 mRNA, 容易发生突变, 使物种内部产生表型差异<sup>[3]</sup>。然而, 在其内部的某些短序列具有较高的稳定性。2012 年研究发现, lncRNA 具有较为保守的二级结构、局部序列和发育的特异性、组织时空表达的特异性和特定的亚细胞定位等特点<sup>[4]</sup>。随着对 lncRNA 研究的深入, 其复杂的生物学功能逐渐被人类所了解。lncRNA 参与了表观遗传、转录和转录后调控等不同生物过程。lncRNA 在 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重构等表观遗传调控中发挥作用; 细胞核中 lncRNA 在转录水平调控基因的表达, ncRNA 可以通过与 DNA 和 RNA 碱基互补配对掩盖剪接点、miRNA 结合位点和启动子, 并以此改变基因表达或蛋白质功能, 其中最常见的是 lncRNA 使蛋白配体结合到某个基因组区域, 从而调节基因的转录; 在转录后水平, lncRNA 通过竞争性结合剪接调节蛋白调控 RNA 前体的选择性剪接。另有一些细胞质中的 lncRNA 可以与 miRNA 结合, 如 ceRNA 以 miRNA 反应元件为语言, 通过竞争结合共同的 miRNA, 影响游离 miRNA 的表达, 在转录后水平调控基因表达<sup>[5]</sup>。

## 2 lncRNA与血管和血管新生

胚胎造血系统发育过程中, 胚胎干细胞先分化为成血管血液干细胞, 进而形成造血干细胞和成血管细胞。造血干细胞为多能干细胞, 通过不对称分裂一方面维持自身数目的相对稳定, 另一方面通过纵向和横向分化生成血细胞和组织细胞, 进行组织修复、功能代偿。H19 基因编码一个 2.3 kb 的非编码 RNA 分子, 是最早被鉴定的印记基因之一。胰岛素样生长因子 2 (insulin-like growth factor-2, IGF2) 是一种多功能细胞增殖调控因子, 在细胞的分化、增殖、胚胎的生长发育以及肿瘤细胞增殖中具有重要的促进作用。H19、IGF2 为一对紧密连锁又交互

印记的印记基因, H19 基因仅表达母系遗传的等位基因, IGF2 表达父系遗传的等位基因, 它们与胚胎的着床及生长发育密切相关。Venkatraman 等<sup>[6]</sup>研究发现, 去除 H19 可以引起大量的静息造血干细胞被激活, 造成大量后期造血干细胞增殖。另外, H19 基因去除同时能激活 IGF2-IGF1R 信号通路, 触发不适当的静息造血干细胞激活和增殖, 导致造血干细胞储备库过早耗尽, 故研究认为 lncRNA-H19 能调控维持静息造血干细胞。

促进红细胞存活的长链基因间非编码性 RNA (long intergenic non-coding RNA-erythroid-prosurvival, lincRNA-EPS) 是一种在红细胞成熟过程结束时特异性、大量表达的 lncRNA。促红细胞生成素是对红细胞生成有增强作用的体液性因子, 在贫血和低氧状态时, 根据身体组织对氧的需要, 促红细胞生成素的供给量将增加, 促红细胞生成素在正常情况下还可阻止血祖细胞发生凋亡。通过先阻断 lincRNA-EPS 在成熟过程中的红细胞内表达, 发现当这些细胞开始分化时即发生凋亡<sup>[7]</sup>。接着, 在成熟中的红细胞内引入 lincRNA-EPS, 在不含促红细胞生成素的环境里进行培养, 这些细胞并没有发生所预期的细胞死亡, 提示 lincRNA-EPS 能够阻止红细胞凋亡。另外, Pycard 基因能够促进程序性细胞死亡, lincRNA-EPS 可以抑制 Pycard 基因的表达, 进而阻止红细胞凋亡。

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。脑缺血时, 缺血区血管新生有利于缺血区的神经修复和组织抗损伤作用, 缺血区血管新生还可以促进中枢神经的再生。Michalik 等<sup>[8]</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 linc00439、Meg3 和 MALAT1 的表达增多, 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

内皮细胞通透性的作用。VEGF受体R-1、R-2、R-3分布于血管内皮细胞表面。陈治和杜钰<sup>[9]</sup>阐述了VEGFR-1促进血管发生及再生的作用机制。Zhou等<sup>[10]</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,从而影响脑中的微血管生成。由此表明, Meg3与血管新生密切相关。

已有研究证明lncRNA与血管生成密切相关。而近些年, lncRNA在血管内皮炎症中的作用越来越受到关注。血管内皮细胞除了作为物质交换屏障外,还有许多重要的功能,如控制血液动力学、调控代谢稳态和调节血管通透性等<sup>[11]</sup>。而炎症会导致内皮层的功能和结构发生改变,影响血液流动,甚至导致血栓的形成,使器官发生缺血缺氧性损伤。有研究利用新型丁内酯衍生物3-苄基-5-(2-硝基苯氧甲基)- $\gamma$ -丁内酯(3BDO)发现了一个来源于转化生长因子 $\beta$ 2(TGFB2)3'UTR的lncRNA——TGFB2-OT1<sup>[12]</sup>。脂多糖(LPS)和氧化型低密度脂蛋白(oxLDL)是导致细胞炎性损伤的重要诱导因子,该研究发现在血管内皮细胞中,炎性诱导因子LPS和oxLDL可以通过提高核转录因子1(NUPR1)和T细胞限制性胞内抗原-1(TIA1)的水平促进TGFB2-OT1的表达,进而促进炎性反应。该研究提示在血管内皮细胞中TGFB2-OT1是一个可能的抗炎靶点。

### 3 lncRNA与缺血缺氧性相关疾病

#### 3.1 lncRNA与缺血性脑卒中

缺血性脑卒中发病率高,尤其在老年人中,不及时诊治往往会导致患者的残疾。局部脑缺血由中心坏死区和周围脑缺血半暗带组成,缺血半暗带因侧支循环的存在在一定时间内脑组织损伤具有可逆性。现代理论证明,中枢神经系统损伤后可通过多种途径恢复。例如,部分内源性神经干细胞(neural progenitor cell, NPC)在脑缺血后会慢慢向神经元和胶质细胞方向分化<sup>[13]</sup>。缺血性脑卒中时,机体引起自噬进行神经保护<sup>[14]</sup>。RMST是一种长链非编码RNA,它通过负向调节使神经干细胞保持干性的SOX2分子表达,起到促进神经干细胞分化的作用<sup>[15]</sup>。转录因子Sox8在少突胶质细胞成熟过程起调控作用, Sox8的互补链编码的一种lncRNA——SoxOT能够调控Sox8的表达,进而调控少突胶质细胞成熟的过程<sup>[16]</sup>。另外,有研究显示约35个lncRNA在成熟的神经元中高表达<sup>[17]</sup>,其通过调控基因表达、参与基因表观沉默等过程参与神经细胞的分化,介

导神经细胞的发生<sup>[18]</sup>。

脑缺血引起的中心区脑细胞坏死不可逆,缺血半暗带区神经细胞的损伤具有可逆性,但缺血区脑组织恢复供血时会发生一系列“瀑布式”缺血级联反应,主要为再灌注损伤。凋亡是脑缺血再灌注损伤发生后神经元死亡的重要形式<sup>[19]</sup>。2013年, Zhang等<sup>[20]</sup>研究显示, lincRNA-RoR通过与hnRNPI结合,负向调节应激诱导下的hnRNPI与p53 mRNA结合,导致p53的表达下降,而p53可以导致脑缺血半影区细胞的损伤。SCAL1是一种新发现的lncRNA, Thai等<sup>[21]</sup>研究显示, SCAL1敲除导致细胞内毒素增多,细胞生存率降低,易发生细胞凋亡,推测SCAL1对细胞有一定保护作用。Liu等<sup>[22]</sup>研究显示, ENSMUST00000166777、AK156124、uc007prv.1和ENSMUST00000170410在缺血再灌注损伤中也起到调控作用。

#### 3.2 lncRNA与缺血性心脏病

缺血性心脏病是由于冠状动脉粥样硬化血管狭窄,心肌缺血、缺氧引起的心脏病。现代医学对心肌缺血的研究越来越多,但未寻找到一条方便、有效,可以适用于大部分患者的改善心肌缺血的治疗方法。近年来,随着lncRNA在各领域研究的深入,已有不少实验证明lncRNA能促进干细胞分化、血管新生,阻止红细胞凋亡,有效治疗缺血性疾病,人们正在试图将这一治疗方法用于临床。lncRNA的深入研究将为缺血性心脏病的诊治开启一扇崭新的大门。

INK4基因座中反义非编码RNA(antisense non-coding RNA in the INK4 locus, ANRIL)是一个位于染色体9p21区域的转录物,其与动脉粥样硬化性疾病的敏感性有关<sup>[23]</sup>。Ross<sup>[24]</sup>研究表明, ANRIL与STAT1有着密切的关系, STAT1能够影响内皮细胞在动脉粥样硬化中的作用,故临床上可增加ANRIL作为诊断动脉粥样硬化病的一种标志物。Kino等<sup>[25]</sup>发现ANRIL可抑制p16INK4a/p15INK4b的表达,阻止血管平滑肌细胞由DNA合成前期进入DNA合成期,阻碍血管重塑和内膜增生,从而降低动脉粥样硬化的形成。慢性炎症反应介导的血管内皮功能紊乱可以导致动脉粥样斑块的形成, TUG是一种能够调控肿瘤细胞增殖和凋亡的lncRNA,其在血管内皮细胞中呈高表达。李孟婷等<sup>[26]</sup>采用实时PCR检测冠心病病例对照的外周血单个核细胞中TUG1的表达,探讨TUG1在内皮细胞功能紊乱中的作用。结果显示,敲低TUG1能抑

制内皮细胞凋亡,提示 TUG1 可能影响血管内皮细胞功能,参与冠心病的发生发展过程,有望成为冠心病的治疗靶点。另外, lncRNA 与冠状动脉粥样硬化的危险因素——脂肪的生成与沉积有密切的联系。有研究显示约 175 种 lncRNA 参与脂肪细胞的分化、脂肪组织的形成和表型转化,有多种 lncRNA 在棕色和白色脂肪组织中高表达,促进脂肪形成<sup>[27]</sup>。Xu 等<sup>[28]</sup>的研究表明,一种名为 SRA 的 lncRNA 通过与过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ ) 相结合来参与调节脂肪的形成。这些研究提示,某些 lncRNA 可以直接或间接调节脂肪的生成和消耗,进而为临床上治疗动脉粥样硬化提供新的思路。

心肌梗死是心脏常见的缺血缺氧性疾病,往往在冠状动脉粥样硬化狭窄基础上,由于某些诱因致使冠状动脉粥样斑块破裂,血栓突然阻塞冠状动脉管腔,导致心肌缺血坏死。心肌耗氧量剧烈增加或冠状动脉痉挛也可诱发急性心肌梗死。UCA1 是一种仅在成人心脏、脾脏组织中表达,且心脏中高表达的长链非编码 RNA,是潜在的急性心肌梗死的生物学标志物。张滨<sup>[29]</sup>测定了急性心梗患者及正常对照组血浆中 UCA1 的水平,并比较急性心梗后不同时间段 UCA1 的表达水平变化,结果显示与健康对照组相比,UCA1 在急性心肌梗死组中表达水平整体呈下调趋势,故可推测血浆 UCA1 的表达水平可以作为急性心肌梗死潜在的诊断标志和治疗靶点。

### 3.3 lncRNA 与其他缺血缺氧性疾病

缺血缺氧性疾病可发生在任何需要供血供氧的器官,除了常见的心脑器官的缺血,还有肝脏缺血、下肢缺血等。TapSAKI 是位于 22 号染色体上的基因内反义 lncRNA, Lorenzen 等<sup>[30]</sup>对缺氧肾内皮及小管上皮细胞进行检测,发现在 ATP 损耗的小管上皮细胞内 TapSAKI 表达丰富,急性肾损伤危重患者血循环也可以检测到该种 lncRNA。Chen 等<sup>[31]</sup>发现在肝脏缺血再灌注损伤中,抑制 lncRNA AK139328 可减少炎症因子的表达。陈真真等<sup>[32]</sup>通过建立小鼠肝脏 70% 缺血再灌注的模型,研究肝脏缺血再灌注损伤后血浆中 lncRNA 表达谱的变化情况,以及某些变化最显著的 lncRNA 在肝脏缺血再灌注损伤中的作用及机制,发现 lncRNA 可能广泛参与了肝脏缺血和再灌注损伤的过程。血浆中广泛存在 lncRNA,缺血再灌注损伤后血浆中某些 lncRNA 的表达变化可能成为肝脏手术或移植过程中缺血再灌注损伤的生物标志物。

## 4 问题与展望

综上所述, lncRNA 在各器官缺血缺氧的发生发展和恢复中起着重要作用。尽管人们已经初步了解 lncRNA 的调控机制以及它们与缺血缺氧性疾病的关系,但是对各脏器缺血缺氧发生发展和恢复过程中 lncRNA 所介导的基因表达调控网络与其作用机制还有待进一步探索。随着生命科学的飞速发展,可以利用分子与细胞生物学、动物整体实验等多种方法来研究缺血缺氧相关生理病理过程中 lncRNA 的表达变化和作用机制,为临床缺血缺氧性疾病诊断和治疗提出新的理念。

### [参 考 文 献]

- [1] Amaral PP, Mattick JS. Noncoding RNA in development. *Mamm Genome*, 2008, 19: 454-92
- [2] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long non-coding RNAs. *Cell*, 2009, 136: 629-41
- [3] Lipovich L, Johnson R, Lin CY. MacroRNA underdogs in a microRNA world: evolutionary, regulatory, and biomedical significance of mammalian long non protein-coding RNA. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799: 597-615
- [4] Niazi F, Valadkhan S. Computational analysis of functional long non-coding RNAs reveals lack of peptide-coding capacity and parallels with 3'UTRs. *RNA*, 2012, 18: 825-43
- [5] Salmena L, Poliseno L, Tay Y, et al. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language. *Cell*, 2011, 146: 353-8
- [6] Venkatraman A, He XC, Thorvaldsen JL, et al. Maternal imprinting at the *H19-Igf2* locus maintains adult haematopoietic stem cell quiescence. *Nature*, 2013, 500: 345-9
- [7] Hu W, Yuan B, Flygare J. Long non-coding RNA mediated antiapoptotic activity in murine erythroid terminal differentiation. *Genes Dev*, 2011, 25: 2573-8
- [8] Michalik KM, You X, Manavski Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth. *Circ Res*, 2014, 114: 1389-97
- [9] 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. *世界华人消化杂志*, 2001, 9: 702-5
- [10] Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor. *Mol Endocrinol*, 2012, 48: R45-53
- [11] 陈玉娟, 欧泽金, 常红恩, 等. 血管内皮功能与冠心病. *分子影像学杂志*, 2014, 37: 272-3
- [12] 黄淑亚. 长非编码 RNA TGFB2-OT1 的表达调控及其在血管内皮细胞自噬和炎症中的作用机制研究[D]. 山东: 山东大学, 2016
- [13] Sawada M, Sawamoto K. Mechanisms of neurogenesis in the normal and injured adult brain. *Keio J Med*, 2013, 62: 13-28
- [14] Huang XP, Ding H, Lu JD, et al. Autophagy in cerebral ischemia and the effects of traditional Chinese medicine. *J*

- Intgr Med, 2015, 13: 289-96
- [15] Ng SY, Bogu GK, Soh BS, et al. The long noncoding RNA RMST interacts with SOX2 to regulate neurogenesis. *Mol Cell*, 2013, 51: 349-59
- [16] Dorn GW. LIPCAR: a mitochondrial lnc in the noncoding RNA chain. *Circ Res*, 2014, 114: 1548-50
- [17] Minger SL, Ekonomou A, Carta EM, et al. Endogenous neurogenesis in the human brain following cerebral infarction. *Regen Med*, 2007, 2: 69-74
- [18] Ng SY, Johnson R, Stanton LW. Human long non-coding RNAs promote pluripotency and neuronal differentiation by association with chromatin modifiers and transcription factors. *EMBO J*, 2012, 31: 522-33
- [19] Sims NR, Muyderman H. Mitochondria, oxidative metabolism and cell death in stroke. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1802: 80-91
- [20] Zhang A, Zhou N, Huang J, et al. The human long noncoding RNARoR is a p53 repressor in response to DNA damage. *Cell Res*, 2013, 23: 340-50
- [21] Thai P, Statt S, Chen CH, et al. Characterization of a novel long non-coding RNA, SCAL1, induced by cigarette smoke and elevated in lung cancer cell lines. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49: 204-11
- [22] Liu Y, LiG, Lu H, et al. Expression profiling and ontology analysis of long noncoding RNA in post-ischemic heart and their implied roles in ischemia/reperfusion injury. *Gene*, 2014, 543: 15-21
- [23] Liu F, Zhou LY, Long B, et al. A long noncoding RNA, CHRF regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-489. *Circ Res*, 2014, 114: 1377-88
- [24] Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J*, 1999, 138: S419-20
- [25] Kino T, Hurt DE, Ichijo T, et al. Non-coding RNA gas5 is a growth arrest and starvation associated repressor of the glucocorticoid receptor. *Sci Signal*, 2010, 3: ra8
- [26] 李孟婷, 李宏帆, 杨彬, 等. LncRNA TUG1在血管内皮细胞功能紊乱中的作用研究. *中国分子心脏病学杂志*, 2016, 2: 1649-52
- [27] Sun L, Goff L A, Trapnell C, et al. Long noncoding RNAs regulate adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 3387-92
- [28] Xu B, Gerin I, Miao H, et al. Multiple roles for the noncoding RNA SRA in regulation of adipogenesis and insulin sensitivity. *PLoS One*, 2010, 5: e14199
- [29] 张滨. 长链非编码RNA(UCA1)在急性心肌梗死患者血浆中变化水平的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2015
- [30] Lorenzen JM, Schauer C, Kielstein JT, et al. Circulating long non-coding RNA Tap SAKI is a predictor of mortality in critically ill patients with acute kidney injury. *Clin Chem*, 2015, 61: 191-201
- [31] Chen Z, Jia S, Li D, et al. Silencing of long non-coding RNA AK139328 attenuates ischemia/reperfusion injury in mouse livers. *PLoS One*, 2013, 8: e80817
- [32] 陈真真, 罗艳金, 贾石, 等. 小鼠肝脏缺血再灌注损伤后血浆中长链非编码RNA的表达谱[C]. 上海: 中国生理学会第24届全国会员代表大会暨生理学学术大会论文汇编, 2014: 44-5