

- tein E-mimetic peptides on demyelination and axonal injury in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. *Apo-plexy Nervous Dis*, 2012, 29(10): 872-875.
- [18] 殷成. 载脂蛋白 E 与神经元损伤和轴突再生相关机制研究. 重庆: 重庆医科大学附属第一医院神经外科, 2012, 1-94.
- [19] Terwel D, Steffensen KR, Verghese PB, et al. Critical role of astroglial apolipoprotein E and liver X receptor- α expression for microglial A β phagocytosis. *Neurosci*, 2011, 31(19): 7049-7059.
- [20] 戴铁强. ApoE 基因多态性与散发性阿尔茨海默病认知功能的关系. 长沙: 中南大学湘雅二院, 2012, 28-33.
- [21] 徐金静, 方力群, 赵春慧, 等. β 淀粉样蛋白对阿尔茨海默病转基因果蝇认知功能的影响. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2013, 40(2): 101-104.
- [22] Zhang N, Ni P, Xu LF, et al. The expression change of amyloid protein β in the hippocampal neurons of ApoE knock-out mice. *Acta Uni Med Anhui*, 2011, 46(6): 531-534.
- [23] Rebeck GW, LaDu MJ, Estus S, et al. The generation and function of soluble ApoE receptors in the CNS. *Mol Neurodegener*, 2006, 1: 1-15.
- [24] GUO SH, SHI J. Research Progress in Apolipoprotein E in Thrombosis-related Diseases and Malignant Tumors. *Chinese General Practice*, 2013, 16(2B): 590-592.
- [25] Xu PT, Li YJ, Qin XJ, et al. Differences in apolipoprotein E3/3 and E4/4 allele-specific gene expression in hippocampus in Alzheimer disease. *Neurobiol Dis*, 2006, 21(2): 256-275.
- [26] Rafiei M, Zarif Yeganeh M, Sheikholeslami S, et al. Apolipoprotein E polymorphisms status in Iranian patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci*, 2012, 320(1-2): 22-25.

长链非编码 RNA 的生物学功能及在神经系统疾病中的作用

李业, 罗朝辉 综述 杨欢 审校

中南大学湘雅医院神经内科, 湖南省长沙市 410008

摘要: 长链非编码 RNA (LncRNA) 涉及发育、肿瘤、变性及免疫多种疾病的发生发展过程。本文从 LncRNA 的 4 种不同空间结构及 3 种参与基因表达调控形式, 阐述 LncRNA 参与神经系统疾病 AD 中神经元的损伤、MS 中免疫细胞的分化、HD 中反义 RNA 作用、脑发育、神经元分化及神经细胞凋亡等过程的研究。

关键词: 长链非编码 RNA; 空间结构; 基因转录; 基因表达调控; 神经系统疾病

长链非编码 RNA (Long noncoding RNA, LncRNA) 是一类长度大于 200 nt 的 RNA 分子, 本身不编码蛋白, 具有特定的二级结构, 在表达上具有组织特异性和时空特异性。LncRNA 以多种方式参与多种生物学过程, 包括基因转录调控、表观遗传学水平的调控、染色质修饰以及个体发育调控、细胞编程以及干细胞多能性的维持等。ENCODE 等项目的数据表明, 在人类中 LncRNA 达 9000 多种, 且广泛分布于基因组中, 包括有转录起始区域、基因间区域、mRNA 的 3' 端或反式转录本中, 然而, LncRNAs 的研究尚处于初步阶段, 已经鉴定了功能的 LncRNAs 仅 100 余种。与 mRNA 相比, 其序列长

度及剪切形式诸多相似, 有一些 LncRNAs 也具有 5' 帽及多聚腺苷酸尾, 其稳定性较好, 也还有一些 LncRNAs 不具有多聚腺苷酸尾^[1], 但其序列保守性较差, 易受进化压力影响; 与 microRNAs 相比, LncRNAs 序列更长、空间结构更复杂^[2]。因此, 其信息含量更加丰富, 参与表达调控的分子机制也更加多样。因此, 本文从 LncRNA 的空间结构及参与基因调控的不同方式, 阐述 LncRNA 在神经疾病中的生物学功能。

1 LncRNAs 的结构及调控方式

根据 LncRNA 在基因组上的位置, 可将其分为 5 种类型: ①正义; ②反义; ③双向; ④基因内; ⑤基

收稿日期: 2013-09-23; 修回日期: 2013-12-04

作者简介: 李业(1984-), 男, 博士在读, 研究方向: 神经免疫。

通讯作者: 杨欢(1969-), 女, 教授, 主任医师, 博士, 主攻神经免疫与神经肌病的研究。E-mail: yangh69@yahoo.com。

因间。目前, LncRNAs 的结构研究绝大部分停留在一级及二级结构, 一级结构的作用主要体现在序列特异性识别、RISC 复合物的定位及蛋白结合的调节, 小部分体现在 siRNA 介导的基因干扰及 miRNA 介导的基因沉默^[3]; 二级结构主要体现在特异性与核转换系统中的转录终止调控^[4]; 对于更复杂的三级空间结构, 目前只能通过已知的其他 RNA 加以揣测。有研究报道推测三级结构可能与变构效应相关, 即“诱导-适应”及“构象选择”^[5]。四级结构的分子之间交流目前尚未见研究报道。从已知功能的 LncRNAs 报道显示, LncRNA 的调控作用方式涉及多种途径、多个水平, 包括对邻近基因的调控^[6]及对区间基因的远程调控^[7], 既有顺式调控^[8], 也有反式调控^[9]; 其作用方式包括: ①与编码基因启动子区结合, 调节邻近蛋白编码基因的表达; ②介导组蛋白修饰、染色质重构, 影响基因表达; ③与编码基因的转录本形成互补双链, 介导 mRNA 亚型的选择性剪切, 或产生内源性的 siRNA, 参与影响基因的表达; ④作为小分子 RNA (如 miRNA、piRNA、mascRNA) 的前体分子, 参与基因调控; ⑤通过直接与相关蛋白质的特异性结合、作为结构组分与蛋白质形成核酸蛋白质复合体或调节蛋白的亚细胞定位, 进一步调节转录或调控蛋白活性^[10]。因此, 进一步探究 LncRNA 的空间结构将有助于加深对其在疾病发生发展中的作用认识。

2 LncRNA 与神经系统疾病的关系

到目前为止, 人们发现 LncRNA 与一些复杂疾病有关。起初, 人们对 LncRNA 与疾病的关联的认识局限于肿瘤性及变性疾病。早在 20 世纪 90 年代 H19 就被发现与癌症有关, 它是第一个被发现与癌症相关的 RNA, 也是第一个被发现的作为印记基因的非编码转录本产物, 它既有抑癌的作用又起促癌生成的作用。人们陆续发现与冠心病相关的 LncRNA (ANRIL)^[11], 还发现其他一些与癌症有关的 LncRNA (如 PCGEM1、MEG3、p15AS 和 HO-TAIR 等)^[12], 甚至发现一些 LncRNA 还是一些癌症特异性生物标记物 (如 PCA3 和 MALAT1)^[13]。新近研究显示, LncRNA 参与神经元的生理功能, 如脑源性神经营养因子的反义转录产物 (Bdnf-AS) 通过与染色质结合, 参与其正义转录的调控; LOC389023 通过影响 DPP10 (电压依赖性钾离子通道亚单位) 的表达, 参与染色体 2q14.1 的特异性组蛋白修饰, 从而实现对神经发育的调控^[14]。

随着研究和认识的进一步深化, LncRNA 与发育及免疫性疾病的关系逐渐引起注意。

2.1 LncRNA 与阿尔茨海默病的关系

阿尔茨海默病 (Alzheimer disease, AD) 是一种以神经细胞内神经原纤维缠结、 β 淀粉样蛋白沉积及神经元丢失伴胶质细胞增生为主要病理改变的神经系统变性病。神经原纤维缠结以海马及新皮质明显, 考虑为神经损伤的非特异性反应。Rad18 通过参与 PCNA 泛素化, 在神经损伤的 DNA 修复中发挥重要作用。Rad18 基因的反义转录产物 LncRNA: NAT-Rad18, 在基因转录后修饰中存在先上调后下调的过程, 提示其增强了神经元凋亡易感性, 降低了神经元遭受 DNA 损伤的可能^[15]。BACE1 基因在 AD 的发病机制中发挥重要的作用, 转录翻译产物 β 分泌酶能够产生 β 淀粉样蛋白, 后者的累积是阿尔兹海默病的主要诱因。而 BACE1 基因的反义转录产物 LncRNA: BACE1-AS 通过与 mRNA 及 miR-485-5p miRNA 形成复合物, 稳定 mRNA 结构, 在转录后水平参与 β 淀粉样蛋白前体代谢^[16]。AD 患者脑组织中 BACE1-AS 水平明显较正常对照组增高并受应激水平影响, 提示其在 AD 发病进程中的驱动作用^[17]。另一种 AD 患者脑组织中上调的 LncRNA: 17A, 在炎症刺激下与 GABA B2 相互作用, 诱导增强 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 分泌, 导致 $A\beta_{x-42}/A\beta_{x-40}$ 失调^[18]。一些 LncRNA 的基因多态性与 AD 的发病相关。如 lincRNA: TCONS_00021856/linc-SLITRK5-11 基因多态性 rs7990916: T > C 在 AD 患者及正常对照组中表现出明显差异性, 可能与局部皮质的白质量相关^[19]。与突触可塑性相关的 LncRNA: BC200 在 AD 患者脑组织中存在明显变化, 一项研究发现其在 AD 患者额叶皮质中的量明显上升, 并且上升的程度与疾病严重程度相关^[20]。但另一项研究则显示 AD 患者中 BC200 RNA 较正常组有 70% 下降^[21]。鉴于 LncRNA 的组织与时期特异性, 截然相反的结果可能与研究对象取材部位不同以及疾病的不同时期有关。这些 LncRNAs 分别与氧化应激、丝氨酸-苏氨酸激酶、线粒体 β -氧化、过氧化物酶、锌指蛋白、组蛋白修饰、高迁移率组 20A、蛋白激酶等 AD 的易感基因相关, 通过参与相应信号传导过程, 影响神经系统功能。

2.2 LncRNA 与多发性硬化关系

近年来有研究提出, 多发性硬化 (multiple scler-

rosis, MS) 的发病与异常活化的 CD8⁺ T 细胞密切相关。而 LncRNA 参与了 CD8⁺ T 细胞的分化及激活过程。相关研究表明,鼠 TEA 启动子转录的 LncRNA 参与调节了调控 T 细胞分化的下游靶基因^[22]。而在人类体内,IL2RA 基因转录的 LncRNA,可能与 MS 易感性相关。由细胞因子基因簇转录的 LncRNA (Tmevpg1) 已被证实,在鼠 Theiler 脑脊髓炎病毒 (TMEV) 的持续性感染中起重要作用,而 TMEV 感染正是因其典型的慢性炎症性脱髓鞘、树突凋亡及轴索变性而成为 MS 研究的实验模型之一^[23]。以上一系列证据都证明了 LncRNA 在相当大的程度上参与了多发性硬化的免疫反应。

2.3 LncRNA 与亨廷顿病的关系

亨廷顿病 (Huntington's disease, HD) 的特征性病理改变为第四对染色体上 Huntington 基因中 CAG 三核苷酸重复序列过度扩张,产生大量变异亨廷顿蛋白,在细胞内逐渐积聚,亨廷顿蛋白通过调节转录抑制因子 REST 的迁移,导致 REST 靶基因过度表达,引起舞蹈样症状、认知障碍甚至痴呆^[24]。一项针对 HD 患者脑组织 LncRNA 表达谱的研究表明,患者纹状体 LncRNA: HAR1F 明显下降,导致 HAR1 基因异常表达,出现异常的 REST 核浆交换^[25-26]。而另一种 LncRNA: HTT 基因的反义转录产物 HTTAS_v1 在 HD 患者额叶皮质中低表达,与内源性 HTT 转录产物水平增高有关,参与了 HD 的发病过程^[27]。在 HD 患者脑组织中出现显著改变的 LncRNA 还有 DGCR5、NEAT1、TUG1 等,尽管其在疾病发病机制中的角色尚不明确^[28]。

2.4 LncRNA 与其他神经系统疾病的关系

研究证明,LncRNAs 在诸多层面参与神经系统疾病的发生发展,广泛参与包括脑发育、神经元分化及功能保持、神经细胞凋亡等过程。LncRNA: SOX2OT 及 1810014B01Rik 在神经变性疾病早期和晚期中都存在明显变化,可能成为潜在的生物标志物,为该类疾病的诊断提供新思路^[29]。LncRNA: naPINK1 通过巩固其靶基因的正义转录产物 svPINK1 的稳定性,干扰正常线粒体呼吸链功能,提高细胞对凋亡信号的敏感性,参与帕金森病的发病进程^[30]。MEG3 为脑膜瘤中潜在的肿瘤抑制 RNA,其印记基因定位于 14q32,脑膜瘤患者缺乏 MEG3 表达,编码的 LncRNA 与靶基因启动子甲基化程度有关^[31]。体外研究显示:脑膜瘤患者 MEG3 启动子与印记控制区 CpG 甲基化频率与肿瘤的侵

袭生长进程密切相关,而去甲基剂 5 硫唑嘌呤 2 脱氧胞苷能促进 MEG3 重表达,均提示该编码 LncRNA 可能成为潜在的脑膜瘤治疗新靶点^[32]。

3 总结与展望

继 miRNA 之后,LncRNA 近年来逐渐成为研究的一大热点。与编码蛋白的 mRNA 相比,多数 LncRNA 表达谱的组织特异性使其作为疾病诊断和预后判断标志物的前景更值得期许^[33]。LncRNA 涉及多种水平的分子调控,在肿瘤、变性疾病及免疫性疾病方面都发挥重要的作用,如人 MATAT-1 在肝癌组织中的高表达、PCA3 与前列腺肿瘤的分化分期相关^[34],以及肝癌患者血清中高表达的 HULC,都是 LncRNA 分子有诊断应用前景的证明。除此之外,作为相应疾病治疗的新靶点,其可塑性也值得期许,有待进行更加深入的研究。如研究人员发现,当干扰 LncRNA NRON 后,NFAT 的活性增加,其机制为 NRON 与 NFAT 转入细胞核的 importin-β 家族蛋白成员结合。这提示可针对 NFAT 异常引起的疾病进行 NRON 的诊治探索。针对 LncRNA BACE1AS 的 siRNA 实验,使得阿尔茨海默模型中的 β 淀粉样蛋白累积减少,可能成为延缓该病进程的治疗药物潜在靶点。针对某些 LncRNA 作用的专一性,可针对性设计治疗性药物,尽量降低对其他无关基因的影响,以达到个性化治疗的目的。但由于 LncRNA 本身的特殊性,如种类繁多、原始序列所包含的信息少及研究手段的限制,对其调控机制的认识仍较肤浅,同时,LncRNA 与其他调控机制作用时受到体内微环境的影响方面,也有待于继续深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Clark MB, Johnston RL, Inostroza-Ponta M, et al. Genome-wide analysis of long noncoding RNA stability. *Genome Res*, 2012, 22(5): 885-898.
- [2] Qureshi IA. Long non-coding RNAs in nervous system function and disease. *Brain Res*, 2010, 1338: 20-35.
- [3] Zamore PD. Ancient pathways programmed by small RNAs. *Science*, 2002, 296(5571): 1265-1269.
- [4] Breaker RR. Complex riboswitches. *Science*, 2008, 319(5871): 1795-1797.
- [5] Vaiana AC, Sanbonmatsu KY. Stochastic gating and drug-ribosome interactions. *J Mol Biol*, 2009, 386(3): 648-661.
- [6] Tufarelli C, Stanley JA, Garrick D, et al. Transcription of antisense RNA leading to gene silencing and methylation as a novel cause of human genetic disease. *Nat Genet*, 2003, 34

- (2): 157-165.
- [7] Khalil AM, Guttman M, Huarte M, et al. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proc Natl Acad Sci*, 2009, 106(28): 11667-11672.
 - [8] Wang X, Arai S, Song X, et al. Induced ncRNAs allosterically modify RNA-binding proteins in cis to inhibit transcription. *Nature*, 2008, 454(7200): 126-130.
 - [9] Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, et al. Function and demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell*, 2007, 129(7): 1311-1323.
 - [10] Khalil AM, Rinn JL. RNA-protein interactions in human health and disease. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22(4): 359-365.
 - [11] Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, et al. Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15 (INK4B) tumor suppressor gene. *Oncogene*, 2011, 30(16): 1956-1962.
 - [12] Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature*, 2010, 464(7291): 1071-1076.
 - [13] Nie L, Wu HJ, Hsu JM, et al. Long non-coding RNAs: versatile master regulators of gene expression and crucial players in cancer. *Am J Transl Res*, 2012, 4(2): 127-150.
 - [14] Tushir JS, Akbarian S. Chromatin-bound RNA and the neurobiology of psychiatric disease. *Neuroscience*, 2013, doi: pii: S0306-4522(13)00557-5.
 - [15] Parenti R, Paratore S, Torrisi A, et al. A natural antisense transcript against Rad18, specifically expressed in neurons and upregulated during beta-amyloid-induced apoptosis. *Eur J Neurosci*, 2007, 26(9): 2444-2457.
 - [16] Faghihi MA, Zhang M, Huang J, et al. Evidence for natural antisense transcript-mediated inhibition of microRNA function. *Genome Biol*, 2010, 11(5): R56.
 - [17] Faghihi MA, Modarresi F, Khalil AM, et al. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of beta-secretase. *Nat Med*, 2008, 14(7): 723-730.
 - [18] Massone S, Vassallo I, Fiorino G, et al. 17A, a novel non-coding RNA, regulates GABA B alternative splicing and signaling in response to inflammatory stimuli and in Alzheimer disease. *Neurobiol Dis*, 2011, 41(2): 308-317.
 - [19] Chen G, Qiu C, Zhang Q, et al. Genome-wide analysis of human SNPs at long intergenic noncoding RNAs. *Hum Mutat*, 2013, 34(2): 338-344.
 - [20] Mus E, Hof PR, Tiedge H. Dendritic BC200 RNA in aging and in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(25): 10679-10684.
 - [21] Lukiw WJ, Handley P, Wong L, et al. BC200 RNA in normal human neocortex, non-Alzheimer dementia (NAD), and senile dementia of the Alzheimer type (AD). *Neurochem Res*, 1992, 17(6): 591-597.
 - [22] Pang KC, Dinger ME, Mercer TR, et al. Genome-wide identification of Long Noncoding RNAs in CD8⁺ T cells. *J Immunol*, 2009, 182(12): 7738-7748.
 - [23] Collier SP, Collins PL, Williams CL, et al. Cutting edge: influence of Tmevpg1, a long intergenic noncoding RNA, on the expression of Ifng by Th1 cells. *J Immunol*, 2012, 189(5): 2084-2088.
 - [24] Zuccato C, Tartari M, Crotti A, et al. Huntingtin interacts with REST/NRSF to modulate the transcription of NRSE-controlled neuronal genes. *Nat Genet*, 2003, 35(1): 76-83.
 - [25] Johnson R, Richter N, Jauch R, et al. The human accelerated region 1 noncoding RNA is repressed by REST in Huntington's disease. *Physiol Genomics*, 2010, 41(2): 269-274.
 - [26] Seong IS, Woda JM, Song JJ, et al. Huntingtin facilitates polycomb repressive complex 2. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(4): 573-583.
 - [27] Chung DW, Rudnicki DD, Yu L, et al. A natural antisense transcript at the Huntington's disease repeat locus regulates HTT expression. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(17): 3467-3477.
 - [28] Johnson R. Long non-coding RNAs in Huntington's disease neurodegeneration. *Neurobiol Dis*, 2012, 46(2): 245-254.
 - [29] Arisi I, D'Onofrio M, Brandi R, et al. Gene expression biomarkers in the brain of a mouse model for Alzheimer's disease: mining of microarray data by logic classification and feature selection. *J Alzheimers Dis*, 2011, 24(4): 721-738.
 - [30] Sai Y, Zou Z, Peng K, et al. The Parkinson's disease-related genes act in mitochondrial homeostasis. *Neurosci Biobehav Rev*, 2012, 36(9): 2034-2043.
 - [31] Qin R, Chen Z, Ding Y, et al. Long non-coding RNA MEG3 inhibits the proliferation of cervical carcinoma cells through the induction of cell cycle arrest and apoptosis. *Neoplasma*, 2013, 60(5): 486-492.
 - [32] Balik V, Srovnal J, Sulla I, et al. MEG3: a novel long noncoding potentially tumour-suppressing RNA in meningiomas. *J Neurooncol*, 2013, 112(1): 1-8.
 - [33] Djebali S, Davis CA. Landscape of transcription in human cells. *Nature*, 2012, 489(6): 101-108.
 - [34] Lee GL, Dobi A, Srivastava S. Prostate cancer: diagnostic performance of the PCA3 urine test. *Nat Rev Urol*, 2011, 8(3): 123-124.