

神经病学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002789

长链非编码 RNAs 与缺血性脑卒中

许 静

(天津医科大学总医院神经内科, 天津 300052)

【摘要】缺血性脑卒中是世界范围内导致死亡和残疾的主要原因之一。科学家们一直致力于阐明其中的细胞和分子病理生理过程。长链非编码 RNAs(long non-coding RNAs, lncRNAs)在许多疾病中发挥重要作用。近年来,在缺血性脑卒中患者和脑缺血动物模型上发现了大量异常表达的 lncRNAs。这些 lncRNAs 参与促进脑缺血后的细胞凋亡、血管形成、炎症反应和细胞死亡。上述发现可能有助于阐明 lncRNAs 在缺血性卒中的作用和机制。进一步探究 lncRNAs 在正常和病理条件下的功能和机制,可能有助于寻找缺血性卒中的生物标志物和新的治疗靶点。

【关键词】缺血性脑卒中;长链非编码 RNAs;表观遗传学;神经保护

【中图分类号】R743

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-03-09

Long non-coding RNAs and ischemic stroke

Xu Jing

(Department of Neurology, Tianjin Medical University General Hospital)

【Abstract】Ischemic stroke is one of the leading causes of mortality and disability worldwide. Scientists have been trying to clarify the cellular and molecular pathophysiological processes. Long non-coding RNAs(lncRNAs) play an important role in a lot of diseases. Recent studies have found that there were a bulk of differentially expressed lncRNAs in both ischemic stroke patients and animal models. They participated in regulating cell apoptosis, angiogenesis, inflammation, and cell death. Those investigations may help to elucidate the mechanisms and functions of lncRNAs in ischemic stroke, which may provide new strategies for seeking new biomarkers and therapeutic targets of ischemic stroke.

【Key words】ischemic stroke; long non-coding RNAs; epigenetics; neuroprotection

缺血性脑卒中占全部脑卒中的 87%。重组组织型纤溶酶原激活剂是目前批准的唯一一种治疗缺血性脑卒中的药物,其弊端在于要求患者发病时间在 3 h、最多 4.5 h 内。药物治疗的缺点促使越来越多的科学家试图寻找新的治疗策略,特别在神经保护、神经再生、血管生成等方面。对缺血性脑卒中病理过程中细胞和分子机制的探索,可为缺血性脑卒中的治疗提供新的方法^[1]。

靶基因。细胞核内的 lncRNAs 可以通过募集染色质修饰复合物调节染色质的状态,进而调控邻近或远隔基因的表达^[2]。lncRNAs 分子作用多种多样,可以作为信号、诱饵、向导、支架等参与调控基因表达。对于发育信号、细胞信号和其他刺激的应答,信号 lncRNAs 可以在特定的空间和时间点转录,进而影响下游信号通路转导^[3]。

1 长链非编码 RNAs 及其功能

长链非编码 RNAs(long non-coding RNAs, lncRNAs)是一类长度大于 200 bp、不编码蛋白质的 RNAs^[2]。研究发现, lncRNAs 参与许多生物学过程,如转录、翻译、剪接、细胞内和细胞外运输等。在细胞内, lncRNAs 可以与蛋白质、DNA 和 RNA 等相互作用。一般来说, lncRNAs 可以在细胞质或细胞核中表达。细胞质内的 lncRNAs 可以通过与 mRNAs 结合,促进或阻断翻译,或者作为 miRNAs 内源性海绵,抑制其下调

2 lncRNAs 与缺血性脑卒中

在缺血性脑卒中, lncRNAs 作为重要的调控因子,参与调节细胞存活、炎症反应和血管形成。超过 200 个 lncRNAs 在缺血性脑卒中动物模型脑组织和脑卒中患者外周血中存在差异表达^[3]。Dharap A 等^[4]应用微阵列芯片技术,发现脑缺血大鼠大脑皮质中有 443 个差异表达 lncRNAs,其中 359 个表达上调,84 个表达下调。另一项研究应用 RNA 测序技术,发现脑血管内皮细胞糖氧剥夺后有 362 个 lncRNAs 存在表达变化,其中 147 个表达上调,70 个表达下调^[5]。这 2 项研究均证实脑缺血后存在 lncRNAs 表达的变化,提示其可能参与缺血性脑卒中的发病机制。已有研究发现,9 个特定的 lncRNAs 参与缺血性脑卒中后的细胞凋亡、炎症反应、细胞坏死及血管形成。

ANRIL 是 INK4 基因座中反义非编码 RNA,在 2007 年

作者介绍:许 静, Email: jingxu01@tmu.edu.cn,

研究方向:脑血管病。

基金项目:国家自然科学基金青年资助项目(编号:81601041)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20210412.2041.032.html>

(2021-04-13)

首次被 Pasmant E 等^[9]发现。在一些恶性肿瘤中,ANRIL 可以被低氧诱导因子-1 和 c-Myc 激活^[7-8]。ANRIL 通过结合于多克隆抑制复合物 1 或 2 调控基因表达,在 INK4b-ARF-INK4a 位点介导基因沉默^[9]。ANRIL 表达上调与动脉粥样硬化、冠心病、脑卒中相关^[10]。与染色体 9p21.3 变异相关的 ANRIL 表达被认为脑卒中高风险和复发的基因标记^[11]。在大鼠脑缺血皮层梗死区 lncRNA ANRIL 的表达明显增加,高表达的 ANRIL 激活血管内皮生长因子及其受体和 I κ B/核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路^[12],进而促进血管生成和炎症过程。Caspase 募集结构域家族成员(caspase recruitment domain family member, CARD)8 是 ANRIL 的另一个靶点。CARD8 基因编码 CARD8 蛋白,是 NF- κ B 信号通路的抑制剂^[13]。CARD8 低表达与缺血性脑卒中低风险相关^[14]。高表达的 ANRIL 通过激活 CARD8 抑制 NF- κ B,进而抑制炎症过程。因此,在缺血性脑卒中,升高的 lncRNA ANRIL 通过血管内皮生长因子及其受体信号通路促进血管生成,通过促进或抑制 NF- κ B 信号通路调节炎症反应。

MALAT1 是存在于不同物种中的非常保守、稳定和丰富的 lncRNA。MALAT1 被证实通过选择性剪接与基因表达促进不同恶性肿瘤的转移和增殖^[15-16]。近年来,在血管内皮细胞、骨骼肌、心肌细胞发现 MALAT1 的表达,可能参与病理性肌生成和血管生成^[17]。MALAT1 的表达在糖氧剥夺内皮细胞模型和小鼠大脑中动脉闭塞模型中明显增加^[5]。敲除 MALAT1 使缺血后脑梗死体积扩大、神经系统评分降低、感觉运动功能降低^[18]。在脑微血管内皮细胞和小鼠缺血脑组织中,沉默 MALAT1 促进了前凋亡因子 Bim 和前炎症因子单核细胞趋化蛋白-1、白介素-6 和 E-选择素的表达^[18],这表明 MALAT1 通过抑制内皮细胞死亡和炎症反应对脑缺血损伤发挥保护作用。因此,增加缺血性脑卒中后 MALAT1 的表达可能对缺血脑组织有保护作用。

lncRNA MEG3 是一个约 1.6 kb 的印迹基因,位于染色体 14q32.3 DLK1 位点,表达于人类许多正常组织中。最初研究发现 MEG3 具有抗增殖作用,其表达缺失导致多种肿瘤形成,而过表达 MEG3 可以抑制肿瘤发展^[19]。许多机制参与肿瘤细胞中 MEG3 的表达缺失,包括基因缺失、基因间差异甲基化区的过甲基化和启动子的过甲基化^[20]。近年研究发现,在神经系统缺血缺氧后存在 MEG3 表达的变化^[21-22]。MEG3 是脑缺血损伤的细胞毒性因子。小鼠脑缺血后 MEG3 表达增加,抑制 MEG3 表达可以减少脑缺血小鼠脑梗死和脑水肿体积,改善神经行为评分^[22]。而过表达 MEG3 通过直接促进 p53 的表达,加重神经元的坏死和凋亡^[22]。

lncRNA H19 是由 H19 基因编码的长度 2.3 kb 的 RNA^[23]。它是一个高度保守的印迹基因,只在母体等位基因表达。在某些病理情况(如肿瘤和氧化应激)下,H19 的表达被再次激活^[24]。脑卒中患者外周血中 lncRNA H19 的水平明显升高,且血浆 lncRNA H19 的水平对缺血性脑卒中有高度诊断价值^[25]。糖氧剥夺细胞模型中,lncRNA H19 的表达明显升高,抑制双特异性磷酸酶 5,激活细胞外调节蛋白激酶 1/2 和自噬,引起神经元凋亡、坏死和自噬性死亡。抑制 lncRNA H19 表达可以减轻糖氧剥夺造成的细胞损伤和自噬^[26]。

lncRNA TUG1 最初在牛磺酸处理的小鼠视网膜细胞中检测到的是长度 7.2 kb 的 lncRNA。TUG1 在许多肿瘤(如骨

肉瘤、胶质瘤和胃癌)中表达明显升高,并促进肿瘤转移^[27]。脑缺血后 TUG1 表达上调^[28]。过表达 TUG1 使缺血后脑梗死体积扩大,细胞凋亡率升高。TUG1 通过抑制 miR-9,进而减弱 miR-9 对 Bcl2 样蛋白 11 的抑制,最终引起细胞毒性作用^[29]。

2016 年首次发现大鼠脑缺血模型中存在 lncRNA N1LR 的异常表达^[30]。脑缺血半小时后 N1LR 表达增加,而随着脑缺血时间延长(1~2 h)N1LR 表达下降,脑梗死体积明显增大。过表达 N1LR 可以通过抑制 p53 激活减轻糖氧剥夺引起的细胞凋亡^[30]。蛋白编码基因 Nck1 参与细胞重塑、糖耐量和胰岛素信号传导,敲除 lncRNA N1LR 引起 Nck1 表达升高^[31]。上述研究提示 N1LR 可能保护神经元对抗缺血损伤。

lncRNA C2dat1 是一种钙/钙调素依赖性蛋白激酶 2D 相关的 lncRNA,2016 年首次在脑缺血损伤大鼠脑组织的中发现^[32]。在脑缺血在体和细胞实验均证实 C2dat1 的表达明显升高。抑制 C2dat1 加重了糖氧剥夺引起的细胞死亡,这提示 C2dat1 的神经保护作用^[32]。钙/钙调素依赖性蛋白激酶 2D 高表达于脑组织和肌肉组织中,介导细胞内钙离子信号通路^[33]。脑缺血时 C2dat1 刺激钙/钙调素依赖性蛋白激酶 2D 的表达和钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II δ 的表达,过表达钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II δ 刺激 IKK α / β -I κ B-NF- κ B 信号通路和 Bcl-xL 的转录激活,进而减轻缺血引起的细胞凋亡^[32]。

lncRNA FosDT 是一个 604 bp 的 lncRNA,与小鼠 6 号染色体的 Fos 基因下游重叠^[34]。在脑缺血大鼠中 FosDT 表达明显升高^[35]。高表达的 FosDT 加重了脑缺血后的神经功能缺损。抑制 FosDT 使脑梗死体积降低,有助于缺血后运动功能恢复^[35],这提示 FosDT 可能是缺氧损伤的细胞毒性因子。

lncRNA SNHG14 是一个长度为 19.2 kb 的 lncRNA,位于染色体 15q11.2 上。SNHG14 与整个 UBE3A 基因重叠^[36]。UBE3A 是脑特异性基因参与神经系统发育。在神经系统分化中,UBE3A 的降低伴随 SNHG14 的过表达^[36]。脑缺血后 SNHG14 的水平明显升高^[37]。作为 miRNA 海绵,高表达的 lncRNA SNHG14 抑制 miR-145-5p,进而减弱 miR-145-5p 对磷脂酶 A2 组 4A 的抑制作用,后者的脱抑制引起细胞凋亡和前炎症因子表达,进而加重神经元损伤^[37]。

总体来说,lncRNAs 通过调控细胞存活、炎症反应及血管形成在缺血性脑卒中发挥重要作用。近年来,对缺血性脑卒中应用 RNA 测序、深度测序及芯片技术发现了大量异常表达的 lncRNAs^[3]。这些数据证实了缺血性卒中中存在 lncRNAs 变化,为阐明缺血性卒中的表观遗传学机制提供了一个新的视角。阐明这些差异表达的 lncRNAs 在生理和病理条件下的功能和机制,可能有助于寻找缺血性脑卒中的生物标志物新的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Mo Y, Sun YY, Liu KY. Autophagy and inflammation in ischemic stroke[J]. Neural Regen Res, 2020, 15(8): 1388-1396.
- [2] Yu SY, Tang L, Zhou SH. Long noncoding RNAs: new players in ischaemia-reperfusion injury[J]. Heart Lung Circ, 2018, 27(3): 322-332.
- [3] Dykstra-Aiello C, Jickling GC, Ander BP, et al. Altered expression of long noncoding RNAs in blood after ischemic stroke and proximity to

- putative stroke risk loci[J]. *Stroke*, 2016, 47(12):2896–2903.
- [4] Dharap A, Nakka VP, Vemuganti R. Effect of focal ischemia on long noncoding RNAs[J]. *Stroke*, 2012, 43(10):2800–2802.
- [5] Zhang J, Yuan L, Zhang X, et al. Altered long non-coding RNA transcriptomic profiles in brain microvascular endothelium after cerebral ischemia[J]. *Exp Neurol*, 2016, 277:162–170.
- [6] Pasmant E, Laurendeau I, Heron D, et al. Characterization of a germline deletion, including the entire INK4/ARF locus, in a melanoma–neural system tumor family; identification of ANRIL, an antisense non-coding RNA whose expression coclusters with ARF[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(8):3963–3969.
- [7] Wei X, Wang C, Ma C, et al. Long noncoding RNA ANRIL is activated by hypoxia-inducible factor-1 alpha and promotes osteosarcoma cell invasion and suppresses cell apoptosis upon hypoxia[J]. *Cancer Cell Int*, 2016, 16:73.
- [8] Lu Y, Zhou X, Xu L, et al. Long noncoding RNA ANRIL could be transactivated by c-Myc and promote tumor progression of non-small-cell lung cancer[J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9:3077–3084.
- [9] Aguilo F, Di Cecilia S, Walsh MJ. Long non-coding RNA ANRIL and polycomb in human cancers and cardiovascular disease[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2016, 394:29–39.
- [10] Holdt LM, Teupser D. Long noncoding RNA ANRIL: lnc-ing genetic variation at the chromosome 9p21 locus to molecular mechanisms of atherosclerosis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5:145.
- [11] Bao MH, Szeto V, Yang BB, et al. Long non-coding RNAs in ischemic stroke[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3):281.
- [12] Zhang B, Wang D, Ji TF, et al. Overexpression of lncRNA ANRIL up-regulates VEGF expression and promotes angiogenesis of diabetes mellitus combined with cerebral infarction by activating NF- κ B signaling pathway in a rat model[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(10):17347–17359.
- [13] Zhang A, Yu J, Yan S, et al. The genetic polymorphism and expression profiles of NLRP3 inflammasome in patients with chronic myeloid leukemia[J]. *Hum Immunol*, 2018, 79(1):57–62.
- [14] Bai Y, Nie S, Jiang G, et al. Regulation of CARD8 expression by ANRIL and association of CARD8 single nucleotide polymorphism rs2043211 (p.C10X) with ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2014, 45(2):383–388.
- [15] Yoshimoto R, Mayeda A, Yoshida M, et al. MALAT1 long non-coding RNA in cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1859(1):192–199.
- [16] Chou J, Wang B, Zheng T, et al. MALAT1 induced migration and invasion of human breast cancer cells by competitively binding miR-1 with CDC42[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 472(1):262–269.
- [17] Michalik KM, You X, Manavski Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth[J]. *Circ Res*, 2014, 114(9):1389–1397.
- [18] Zhang X, Tang X, Liu K, et al. Long noncoding RNA Malat1 regulates cerebrovascular pathologies in ischemic stroke[J]. *J Neurosci*, 2017, 37(7):1797–1806.
- [19] Xiang Y, Zhang Y, Xia Y, et al. LncRNA MEG3 targeting miR-424-5p via MAPK signaling pathway mediates neuronal apoptosis in ischemic stroke[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(4):3156–3174.
- [20] Ghafouri-Fard S, Taheri M. Maternally expressed gene 3 (MEG3): a tumor suppressor long non coding RNA[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118:109129.
- [21] Liu X, Hou L, Huang W, et al. The mechanism of long non-coding RNA MEG3 for neurons apoptosis caused by hypoxia: mediated by miR-181b-12/15-LOX signaling pathway[J]. *Front Cell Neurosci*, 2016, 10:201.
- [22] Yan H, Yuan J, Gao L, et al. Long noncoding RNA MEG3 activation of p53 mediates ischemic neuronal death in stroke[J]. *Neuroscience*, 2016, 337:191–199.
- [23] Brunkow ME, Tilghman SM. Ectopic expression of the H19 gene in mice causes prenatal lethality[J]. *Genes Dev*, 1991, 5(6):1092–1101.
- [24] Wang WT, Ye H, Wei PP, et al. LncRNAs H19 and HULC, activated by oxidative stress, promote cell migration and invasion in cholangiocarcinoma through a ceRNA manner[J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1):117.
- [25] Wang J, Zhao H, Fan Z, et al. Long noncoding RNA H19 promotes neuroinflammation in ischemic stroke by driving histone deacetylase 1-dependent M1 microglial polarization[J]. *Stroke*, 2017, 48(8):2211–2221.
- [26] Wang J, Cao B, Han D, et al. Long non-coding RNA H19 induces cerebral ischemia reperfusion injury via activation of autophagy[J]. *Aging Dis*, 2017, 8(1):71–84.
- [27] Zhou H, Sun L, Wan F. Molecular mechanisms of TUG1 in the proliferation, apoptosis, migration and invasion of cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(5):4393–4402.
- [28] Chen S, Wang M, Yang H, et al. LncRNA TUG1 sponges microRNA-9 to promote neurons apoptosis by up-regulated Bcl2l11 under ischemia[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 485(1):167–173.
- [29] Cai H, Liu X, Zheng J, et al. Long non-coding RNA taurine up-regulated 1 enhances tumor-induced angiogenesis through inhibiting microRNA-299 in human glioblastoma[J]. *Oncogene*, 2017, 36(3):318–331.
- [30] Wu Z, Wu P, Zuo X, et al. LncRNA-N1LR enhances neuroprotection against ischemic stroke probably by inhibiting p53 phosphorylation[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54:7670–7685.
- [31] Wu Z, Wu P, Zuo X, et al. LncRNA-N1LR enhances neuroprotection against ischemic stroke probably by inhibiting p53 phosphorylation[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(10):7670–7685.
- [32] Xu Q, Deng F, Xing Z, et al. Long non-coding RNA C2dat1 regulates CaMKII δ expression to promote neuronal survival through the NF- κ B signaling pathway following cerebral ischemia[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7:e2173.
- [33] Gray CB, Heller-Brown J. CaMKII δ subtypes: localization and function[J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5:15.
- [34] Ji Y, Guo X, Zhang Z, et al. CaMKII δ mediates phenylephrine induced cardiomyocyte hypertrophy through store-operated Ca²⁺ entry[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2017, 27:9–17.
- [35] Mehta SL, Kim T, Vemuganti R. Long noncoding RNA FosDT promotes ischemic brain injury by interacting with REST-associated chromatin-modifying proteins[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(50):16443–16449.
- [36] Stanurova J, Neureiter A, Hiber M, et al. Angelman syndrome-derived neurons display late onset of paternal UBE3A silencing[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:30792.
- [37] Qi X, Shao M, Sun H, et al. Long non-coding RNA SNHG14 promotes microglia activation by regulating miR-145-5p/PLA2G4A in cerebral infarction[J]. *Neuroscience*, 2017, 348:98–106.