

长链非编码 RNA 与脓毒症相关的研究进展

孙玲玲 李莉 严静

310053 浙江杭州,浙江中医药大学第二临床医学院(孙玲玲);310013 浙江杭州,浙江医院重症医学科(李莉、严静)

通讯作者:严静,Email:zjicu@vip.163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.02.018

【摘要】 长链非编码 RNA (lncRNA) 作用机制多样,在多层次可调控基因的表达水平,与肿瘤形成、病毒复制、炎症损伤等病理过程紧密相关。lncRNA 的异常表达参与疾病的病理生理改变,在 mRNA 的稳定、翻译水平调节、蛋白运输、RNA 加工和修饰等诸多环节发挥关键作用。脓毒症炎症损伤的发生发展是一个涉及多基因、多通路的复杂过程,存在众多编码或非编码基因的结构和表达异常。综述 lncRNA 在调控线粒体分裂、调控促炎因子、调控钙离子转运、调控核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路及调控其他炎症损伤等方面的研究进展,为脓毒症的诊治提供新的手段。

【关键词】 脓毒症; 炎症损伤; 基因表达调控; 长链非编码 RNA

基金项目: 国家自然科学基金(81401580)

Progress in relationship of the long non-coding RNA and sepsis Sun Lingling, Li Li, Yan Jing

Department of Second Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China (Sun LL); Department of Critical Care Medicine, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, Zhejiang, China (Li L, Yan J)

Corresponding author: Yan Jing, Email: zjicu@vip.163.com

【Abstract】 The mechanism of long chain non-coding RNA (lncRNA) is diverse. lncRNA can regulate the expression of genes at multiple levels and is closely related to some pathological process, such as tumor formation, viral replication, inflammatory damage, etc. The abnormal expression of lncRNA is involved in the patho-physiological changes of the disease, and plays a key role in many links, such as the stability of mRNA, the regulation of translation level, protein transport, RNA processing and modification, and so on. The development of sepsis inflammatory injury is a complex process involving multiple genes and pathways, in which the abnormal structure and expression of many encoding genes or non-coding genes exist. This paper review the research progress on lncRNA in the regulation of chondriokinesis, pro-inflammatory cytokines, calcium ion transport, nuclear factor- κ B (NF- κ B) in signal pathway and other inflammatory lesions, which may provide a new method for the diagnosis and treatment of sepsis.

【Key words】 Sepsis; Inflammation injury; Gene expression regulation; Long chain non-coding RNA

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81401580)

长链非编码 RNA (lncRNA) 是一类真核细胞内普遍存在的转录本长度超过 200 nt 的 RNA,但其本身并不编码蛋白质,以 RNA 的形式存在于细胞核或细胞质内调控蛋白编码基因,其作用机制多样,在多层次调控基因的表达水平,与肿瘤形成、病毒复制、炎症损伤等病理过程紧密相关^[1]。因此,筛选与炎症等重要疾病相关的 lncRNA 并探讨其作用机制已成为非编码 RNA (ncRNA) 领域的研究热点。

真核生物转录的基因组 DNA 中,尽管所有细胞只有 1%~2% 可转录本编码蛋白质^[2-3],但大多数 RNA 是不同长度的 ncRNA (短链长度约 17~30 bp,长链长度约 >200 bp)。最初, lncRNA 曾被认为不具有任何生物学功能,然而自 20 世纪 90 年代发现第一个有功能的 lncRNA 以来,近年研究发现,某些特定的 lncRNA 表达水平会在疾病进展中出现明显变化, lncRNA 的异常表达参与疾病的病理生理改变,在信使 RNA (mRNA) 的稳定、翻译水平调节、蛋白运输、RNA 加工和修饰等诸多环节发挥关键作用^[4]。lncRNA 的作用机制极为复杂,可在转录水平直接影响基因转录;也可作

为小分子 RNA,如微小 RNA (miRNA)、内源性小干扰 RNA (siRNA) 的前体分子,调控转录后水平的基因表达; lncRNA 也可与 miRNA 等调控因子发生交联,形成复杂的 ncRNA 调控网络,影响机体的病理生理过程^[5]; lncRNA 还能影响甲基转移酶或磷酸化酶的活性,改变蛋白的甲基化或磷酸化水平,从而影响蛋白活性^[6]。现对 lncRNA 调控脓毒症的进展进行综述,以期对脓毒症的防治提供新的思路。

1 lncRNA 调控线粒体分裂

正常细胞需要不断分裂和融合线粒体来维持细胞的生理功能。心肌能量代谢的主要场所是线粒体,心肌能量代谢障碍是脓毒症心肌损伤的重要机制之一。研究表明,脓毒症模型兔早期即有心肌损害,表现为心肌收缩和舒张功能均下降^[7]。当出现脓毒症心肌损伤时,心肌处于低灌注状态,引起心肌微循环障碍、心肌细胞缺氧。2014 年, Wang 等^[8]对缺氧心肌细胞进行了 4 个独立实验,发现一种能够调控心肌细胞线粒体分裂和融合的 lncRNA,并将其命名为心肌凋亡 lncRNA (CARL)。CARL 可以降低 miRNA-539 (miR-539)

的表达水平和活性,通过碱基互补吸附 miR-539 来抑制线粒体分裂。心肌保护因子重组人抗增殖蛋白 2 (PHB2) 是一个能够抑制线粒体分裂和细胞凋亡的蛋白。miR-539 能够靶向抑制 PHB2 的表达,进而调节线粒体分裂和细胞凋亡;敲除 miR-539 后可以抑制缺氧诱导的线粒体分裂和细胞凋亡,然而,当敲除 PHB2 时这种抑制作用减弱。这是一条由 CARL、miR-539 和 PHB2 共同组成的信号调节通路。该发现揭示了 lncRNA 在心肌细胞中的生物学功能,也阐明了 lncRNA 在线粒体分裂机制中的关键调节作用。

2 lncRNA 调控促炎因子

促炎因子的分泌是脓毒症心肌损伤发生发展的根本,lncRNA 通过间接调控细胞因子能导致心肌损伤。脓毒症时机体产生多种细胞因子,其中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 是脓毒症炎症反应的主要介质,可通过不同方式导致炎症损伤。研究显示,脂多糖(LPS)致脓毒症小鼠表现为肠组织微血管通透性增加、间质水肿、白细胞浸润,血浆 LPS、TNF- α 、IL-1 β 水平及小肠 TNF- α 、IL-1 β 、髓过氧化物酶(MPO)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1) 阳性表达、诱导型一氧化氮合酶(iNOS) mRNA 表达、核转录因子- κ B (NF- κ B) 蛋白表达均明显升高^[9]。TNF- α 是一种能够引起心肌延展性和收缩峰值速率下降的促炎因子^[10]。Carpenter 等^[11]对一种合成细菌脂肽 Pam3CSK4 [Toll 样受体 2 (TLR2) 配体] 感染的小鼠骨髓源性巨噬细胞 (macroPBMDMs) 的转录组 RNA 序列进行研究,发现感染后有 62 种 lncRNA 表达水平明显升高,其中 lncRNA-环氧化酶 2 (COX₂) 为最高表达。另外,LPS 可导致 TLR4 活化,并进一步活化巨噬细胞,表达组织相容性复合物 I 和 II,从而表达细胞因子和趋化因子,并启动获得性免疫反应和炎症反应^[12-13],促进 TLR7/TLR8,高表达的 lncRNA-COX₂ 调节髓样分化因子 88 (Myd88)-NF- κ B 通道,削弱细胞的杀伤作用,从而促进炎症发展。lncRNA-COX₂ 存在于巨噬细胞的细胞核和细胞质,与核蛋白抗体 (hnRNP) A/B 和 A2/B1 相互作用来抑制目标基因的表达。hnRNP 主要影响 mRNA 的加工和稳定性^[14]。因此,lncRNA-hnRNP 相互作用是 lncRNA 间接调控翻译水平的典范。Li 等^[15]研究发现,在 Pam3CSK4 刺激下,其他 lncRNA 如 linc 0206、linc 3995、linc 7190 和 linc 7705 均参与了调节 TNF- α 或 IL-6 的水平,但其如何调节细胞因子的表达,至今尚不清楚。

Cui 等^[16]对 lncRNA 进行基因芯片分析后发现,LPS 刺激人单核细胞 (THP-1, TLR4 配体) 可促进 443 种 lncRNA 表达增加大于 2 倍,抑制 718 种 lncRNA 表达至原来的一半。在这些 lncRNA 中,最高上调表达基因是 lncRNA 人白细胞介素-7 受体 (lnc-IL7R),其主要存在于细胞核中。LPS 刺激 lnc-IL7R 高表达表明 lnc-IL7R 参与了早期免疫反应,Pam3CSK4 也可以提高 lnc-IL7R 表达水平。lnc-IL7R 可负调控 E-选择素、血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1)、IL-8、IL-6 表达水平,其调节 E-选择素、VCAM-1 的机制是赖氨酸 (H3K27me3) 组蛋白 H3 的脱甲基作用。但敲除 lnc-IL7R

基因后减少 IL-6、IL-8 mRNA 表达的机制尚不清楚。

3 lncRNA 调控钙离子转运

心肌细胞钙平衡失调是脓毒症心肌舒缩功能障碍的直接影响因素^[17]。心肌细胞线粒体 Ca²⁺ 不仅可以调节细胞因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的分泌,进一步参与细胞凋亡,还可参与心肌兴奋收缩耦联;而心肌细胞膜内外 Ca²⁺ 的稳定性是维持正常心肌细胞功能的基础。胞质内 Ca²⁺ 浓度的变化在心肌兴奋收缩耦联中起关键作用^[18]。在 LPS 诱导感染性休克豚鼠模型的心肌细胞内发现, Ca²⁺ 水平早期可明显上升,这种变化在一定程度上可以增加心肌收缩力;但是随着病程的进展,线粒体内积聚或摄取过量的 Ca²⁺ 超出了线粒体的承受能力,形成钙超载,可导致线粒体发生不可逆性损害甚至引起整个细胞死亡^[19]。Magny 等^[20]对果蝇进行研究发现,有多种 lncRNA 通过调节 Ca²⁺ 从而调控心肌功能,其中最典型的 lncRNA 肌肉特异性转录物 (pncr003:2L) 在果蝇中参与编码 28 位、29 位氨基酸,被命名为肌纤维 A、B。果蝇中有相当于心磷脂和受磷蛋白的结构及功能,通过肌质网的 ATP 酶参与调节 Ca²⁺ 转运。肌浆网受磷蛋白参与 ATP 酶及其调节蛋白的精密调控,脓毒症后期功能障碍时心肌受磷蛋白磷酸化水平下降,使得钙-ATP 酶活性降低,心肌舒张功能下降^[21-23]。然而在脓毒症中,lncRNA 是否通过受磷蛋白磷酸化水平调节心肌细胞尚需进一步研究。

4 lncRNA 调控 NF- κ B 信号通路

lncRNA 可通过调控 NF- κ B 信号通路调节血管炎症损伤。Krawczyk 和 Emerson^[24]发现人类基因组中存在一种独特的 lncRNA,被命名为 PACER。PACER 类似于 lncRNA-COX₂,可通过调控 P50 NF- κ B 通路调节环氧化酶的 NF- κ B 相关转录,从而促进血管炎症发展。Rapicavoli 等^[25]对小鼠胚胎成纤维细胞进行研究时发现了另一种 lncRNA,可与 P50 蛋白的 NF- κ B 亚基相互作用,被命名为 Lethe。Lethe 参与 TNF- α 和 IL-1 β 的 NF- κ B 亚基折叠,主要位于细胞核染色体。在细胞核中,Lethe 通过结合 P65 亚基使其失活,从而抑制 NF- κ B 信号转导通路。因此,Lethe 参与负反馈通路,是 NF- κ B 诱导基因,使调控 NF- κ B 表达的相关基因失活。然而在人类基因中是否存在 Lethe 同源基因或在细胞中是否有特殊的功能,目前尚不明确。

5 lncRNA 调控其他炎症性损伤

大多数研究表明 ncRNA 与基因沉默密切相关。最典型的 lncRNA 是 X 染色失活基因 (XIST) 和 Xist 的反义基因 (TSIX),它们可以通过调控转录过程使雌性哺乳动物的一条 X 染色体失活^[26-27]。在转录过程中,XIST 可以保持 X 染色体失活状态和聚集染色质改构复合物 [如多梳蛋白抑制复合体 (PRC2、PRC1)],维持转录抑制状态,调节异染色质形成^[28]。染色质改构复合物对转录具有抑制作用,在转录水平的调控中起着关键的作用,在基因活动中也参与了染色体结构的调整。TSIX 具有抗 XIST 功能,通过染色质修饰从而抑制 XIST 转录。XIST 与 TSIX 相互作用机制是 RNA 结构的联合作用以及 siRNA 的聚集染色质改构复合物作用^[29]。

近年在哺乳动物基因中发现了大量抗转录基因,越来越多的证据表明抗转录基因通过聚集染色质改构复合物或组蛋白甲基化,在基因变化中具有重要的作用^[30-31]。另外, Yang等^[32]研究表明, lncRNA 具有支架一样的功能,使基因停留在一个特殊的亚核区域,从而发挥抑制或激活的功能。

6 小结

综上, lncRNA 可通过调节线粒体分裂、促炎因子、钙离子转运、NF- κ B 信号通路等参与调控炎症性损伤,目前仍需要大量关于 lncRNA 调节促炎与抗炎平衡的研究,进一步对 lncRNA 的研究有助于发现新的靶向药物来治疗炎症性疾病,但由于 lncRNA 的多样性、低表达水平、序列的分散性,使得人们对其功能的研究更具有挑战性,深入对 lncRNA 功能和调控机制的研究将为脓毒症的预防和治疗提供新思路。

参考文献

- Wang KC, Yang YW, Liu B, et al. A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression [J]. *Nature*, 2011, 472 (7341): 120–124. DOI: 10.1038/nature09819.
- Mattick JS, Makunin IV. Small regulatory RNAs in mammals [J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14 Spec No 1: R121–132. DOI: 10.1093/hmg/ddi101.
- Tisseur M, Kwapisz M, Morillon A. Pervasive transcription – Lessons from yeast [J]. *Biochimie*, 2011, 93 (11): 1889–1896. DOI: 10.1016/j.biochi.2011.07.001.
- Lee JT. Epigenetic regulation by long noncoding RNAs [J]. *Science*, 2012, 338 (6113): 1435–1439. DOI: 10.1126/science.1231776.
- Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, et al. A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA [J]. *Cell*, 2011, 147 (2): 358–369. DOI: 10.1016/j.cell.2011.09.028.
- Maenner S, Müller M, Becker PB. Roles of long, non-coding RNA in chromosome-wide transcription regulation: lessons from two dosage compensation systems [J]. *Biochimie*, 2012, 94 (7): 1490–1498. DOI: 10.1016/j.biochi.2011.12.026.
- 潘小进, 孙华. 兔脓毒症早期心肌功能的变化 [J]. *中华危重病急救医学*, 2004, 16 (6): 355–357. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2004.06.009.
- Pan XJ, Sun H. Alterations in myocardial function in early stage of sepsis in rabbits [J]. *Chin Crit Care Med*, 2004, 16 (6): 355–357. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2004.06.009.
- Wang K, Long B, Zhou LY, et al. CARL lncRNA inhibits anoxia-induced mitochondrial fission and apoptosis in cardiomyocytes by impairing miR-539-dependent PHB2 downregulation [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3596. DOI: 10.1038/ncomms4596.
- 吕汪涸, 秦魏婷, 张锦丽, 等. 苦柯胺 B 对脂多糖诱导的脓毒症小鼠小肠炎症反应的抑制作用及分子机制 [J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27 (2): 121–126. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.02.009.
- Lyu WH, Qin WT, Zhang JL, et al. Inhibitory effects of Kukoamine B on the inflammatory response of small intestine in lipopolysaccharide-induced septic mice and its potential mechanisms [J]. *Chin Crit Care Med*, 2015, 27 (2): 121–126. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.02.009.
- Vincent JL. Hemodynamic support in septic shock [J]. *Intensive Care Med*, 2001, 27 Suppl 1: S80–92.
- Carpenter S, Aiello D, Atianand MK, et al. A long noncoding RNA mediates both activation and repression of immune response genes [J]. *Science*, 2013, 341 (6147): 789–792. DOI: 10.1126/science.1240925.
- Lehnardt S. Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: the role of microglia in Toll-like receptor-mediated neuronal injury [J]. *Glia*, 2010, 58 (3): 253–263. DOI: 10.1002/glia.20928.
- 李旭, 刘一娜, 马晓春. 肝素通过 Toll 样受体 4 减少脂多糖刺激人内皮细胞胞粒细胞集落刺激因子的表达 [J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27 (2): 81–85. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.02.001.
- Li X, Liu YN, Ma XC. Unfractionated heparin inhibits lipopolysaccharide-induced expression of granulocyte colony-

- stimulating factor in human endothelial cells through Toll-like receptor 4 signaling pathway [J]. *Chin Crit Care Med*, 2015, 27 (2): 81–85. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.02.001.
- Krecic AM, Swanson MS. hnRNP complexes: composition, structure, and function [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1999, 11 (3): 363–371. DOI: 10.1016/S0955-0674(99)80051-9.
- Li Z, Chao TC, Chang KY, et al. The long noncoding RNA THRIL regulates TNF α expression through its interaction with hnRNPL [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111 (3): 1002–1007. DOI: 10.1073/pnas.1313768111.
- Cui H, Xie N, Tan Z, et al. The human long noncoding RNA lnc-IL7R regulates the inflammatory response [J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44 (7): 2085–2095. DOI: 10.1002/eji.201344126.
- 朱颖, 严静. 钙平衡失调在脓毒症心肌损伤中的作用 [J]. *心脑血管病防治*, 2014, 14 (2): 149–151. DOI: 10.3969/j.issn.1009-816x.2014.02.24.
- Zhu Y, Yan J. The role of calcium balance disorder in myocardial injury induced by sepsis [J]. *Prev Treat Cardio-Cerebral-Vascular Dis*, 2014, 14 (2): 149–151. DOI: 10.3969/j.issn.1009-816x.2014.02.24.
- Shanmugam M, Molina CE, Gao S, et al. Decreased sarcolipin protein expression and enhanced sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺ uptake in human atrial fibrillation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 410 (1): 97–101. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.05.113.
- Lancel S, Petillot P, Favory R, et al. Expression of apoptosis regulatory factors during myocardial dysfunction in endotoxemic rats [J]. *Crit Care Med*, 2005, 33 (3): 492–496. DOI: 10.1097/01.CCM.0000156240.31913.4A.
- Magny EG, Pueyo JI, Pearl FM, et al. Conserved regulation of cardiac calcium uptake by peptides encoded in small open reading frames [J]. *Science*, 2013, 341 (6150): 1116–1120. DOI: 10.1126/science.1238802.
- Wu LL, Tang C, Dong LW, et al. Altered phospholamban-calcium ATPase interaction in cardiac sarcoplasmic reticulum during the progression of sepsis [J]. *Shock*, 2002, 17 (5): 389–393. DOI: 10.1097/00024382-200205000-00008.
- Asahi M, Sugita Y, Kurzydowski K, et al. Sarcolipin regulates sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA) by binding to transmembrane helices alone or in association with phospholamban [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100 (9): 5040–5045. DOI: 10.1073/pnas.0330962100.
- Ocorr KA, Crawley T, Gibson G, et al. Genetic variation for cardiac dysfunction in *Drosophila* [J]. *PLoS One*, 2007, 2 (7): e601. DOI: 10.1371/journal.pone.0000601.
- Krawczyk M, Emerson BM. p50-associated COX-2 extragenic RNA (PACER) activates COX-2 gene expression by occluding repressive NF- κ B complexes [J]. *Elife*, 2014, 3 (3): e01776. DOI: 10.7554/eLife.01776.
- Rapicavoli NA, Qu K, Zhang J, et al. A mammalian pseudogene lncRNA at the interface of inflammation and anti-inflammatory therapeutics [J]. *Elife*, 2013, 2: e00762. DOI: 10.7554/eLife.00762.
- Nora EP, Heard E. Chromatin structure and nuclear organization dynamics during X-chromosome inactivation [J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2010, 75: 333–344. DOI: 10.1101/sqb.2010.75.032.
- Morey C, Avner P. The demoiselle of X-inactivation: 50 years old and as trendy and mesmerising as ever [J]. *PLoS Genet*, 2011, 7 (7): e1002212. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002212.
- Pontier DB, Gribnau J. Xist regulation and function explored [J]. *Hum Genet*, 2011, 130 (2): 223–236. DOI: 10.1007/s00439-011-1008-7.
- Ogawa Y, Sun BK, Lee JT. Intersection of the RNA interference and X-inactivation pathways [J]. *Science*, 2008, 320 (5881): 1336–1341. DOI: 10.1126/science.1157676.
- Faghihi MA, Wahlestedt C. Regulatory roles of natural antisense transcripts [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10 (9): 637–643. DOI: 10.1038/nrm2738.
- Kaikkonen MU, Lam MT, Glass CK. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 90 (3): 430–440. DOI: 10.1093/cvr/cvr097.
- Yang L, Lin C, Liu W, et al. ncRNA- and Pc2 methylation-dependent gene relocation between nuclear structures mediates gene activation programs [J]. *Cell*, 2011, 147 (4): 773–788. DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.054.

(收稿日期: 2016-10-07)