

LncRNA在神经系统发育和损伤修复中的研究进展

Role of LncRNA in the nervous system development and regeneration

丁 亚, 邹红军, 高 鑫, 李 晨, 李文亮, 刘锦波

(苏州大学第三附属医院 213000 常州市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2015.02.15

中图分类号: R683.2, Q786 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2015)-02-0183-03

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 是一类长度大于 200nt, 缺乏显著开放阅读框 (open reading frame, ORF) 的非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA)。LncRNA 不仅参与了神经系统的生长发育和功能完善, 而且参与神经系统损伤之后再生过程。LncRNA 通过调控某些重要编码基因的表达, 使神经系统按照一定的时间顺序和在一定的空间内进行生长和发育, 并且参与执行神经系统的功能。此外, LncRNA 异常表达同神经系统再生过程相关。现在实验已证实, LncRNA 参与了脑发育、神经元分化、突触可塑性的发生发展。因此, 深入研究神经系统中 LncRNA 功能和作用机制, 将丰富我们对神经系统发育、功能及疾病的认识, 同时也可某些治疗药物的设计与研发提供新思路。因此, 笔者就 LncRNA 在神经系统发育和损伤后修复的研究进展简要综述如下。

1 LncRNA 的种类和功能

长链非编码 RNA 其本身不编码蛋白质, 但具有特定的二级结构, 在表达上具有时间和空间特异性^[1]。Okazaki 等于 2002 年在对小鼠的全长 cDNA 文库大规模测序的过程中首次描述了 LncRNA^[2]。近年来研究表明, LncRNA 能够在表观遗传学、转录水平以及转录后水平调控基因表达, 参与到物种进化、胚胎发育、物质代谢和疾病发生发展等过程^[3]。随着 LncRNA 的功能慢慢被人们认识和接受, 它逐渐成为分子领域的研究重点和热点。

1.1 LncRNA 的种类

Mercer 等^[3]根据 LncRNA 在基因组上相对于蛋白编码基因的位置, 将 LncRNA 大致可分为以下 5 类: (1) 正义 LncRNA, 重叠在蛋白质编码链上; (2) 反义 LncRNA, 重叠在蛋白质反义链上; (3) 双向 LncRNA, LncRNA 序列在蛋白质反义链上, 但不与蛋白质编码基因反义链重叠, 而是与转录起点相距>1000 个基点, 且转录方向相反; (4) 内含子内 LncRNA, LncRNA 与蛋白质编码基因无关, 而是位于另一个转录本的内含子; (5) 基因间 LncRNA, LncRNA 存在基因之间, 其序列不与任何蛋白编码基因相邻近^[3]。

1.2 LncRNA 的功能

根据目前已发现的 LncRNA 的相关数据, Mercer 推测 LncRNA 可能有以下几种作用机制: (1) 重塑染色质的结构, 通过利用特异性基因位点的染色质重塑复合体, LncRNA 使染色质重塑, 进而使基因的表观遗传学发生改变; (2) 在转录水平调节基因表达, ①LncRNA 可以与转录因子结合, 可以表现增强或者沉默转录因子的作用, 进而参与到基因的转录过程中; ②LncRNA 与 RNA 聚合酶 II 依赖基本的转录元件相互作用, 可以影响全身性的改变; (3) 转录后水平调节基因表达, LncRNA 通过特异性地识别互补序列, 参与到转录后的剪接、运输、修饰、翻译和降解等多个环节^[4]。

2 LncRNA 在神经系统生长发育及功能完善中的作用

2.1 LncRNA 调控神经系统生长发育

在对神经系统的基因研究中发现, 非编码 RNA 在特定的时间和空间进行正确的表达对神经系统生长发育有着重要的作用, LncRNA 作为非编码 RNA 的重要组成部分参与了神经元分化、脑发育、突触可塑性^[4]。LncRNA 参与神经系统生长发育的调控, 使得神经系统按照正常的时间和空间顺序进行生长和分化。LncRNA 在胚胎时期参与胚胎细胞向神经细胞分化过程^[5-8]。在对胚胎时期的基因分析发现, LncRNA 对周围有关神经分化和细胞形态维持的编码基因 [脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, Bdnf)、脑发育同源蛋白 1 (Developing brain homeobox 1, Dbx1)、烷基化修复蛋白 B 同源体 1 (alkB homolog 1, Alkbh1)、人神经源性分化蛋白 2 (neurogenic differentiation factor 2, Neurod2)、神经元相关的细胞粘附分子 (Neuronal cell adhesion molecule, Nrcam)] 有着密切的关系, 这对胚胎时期的脑分化有着潜在的调节作用^[9, 10]。在对神经干细胞的研究中, LncRNA 参与调控其向神经细胞分化。例如 Ng 等发现 LncRNA_ES1、LncRNA_ES2 和 LncRNA_ES 与神经干细胞干性的维持和分化的方向有密切的联系^[10]。Guttman 等在 2009 年通过分析小鼠神经元 (包括神经前体细胞) 染色质发现了至少 1000 个保守的基因间 LncRNA, 并对其维持胚胎干细胞的干性进行了初步的假设和证实^[11]。随后, 通过基因功能组学分析发现, 这些基因间的 LncRNA 不仅参与了小鼠腹侧

第一作者简介: 男 (1991-), 在读研究生, 研究方向: 脊髓损伤修复
电话: (0519) 68870773 E-mail: anoei@hotmail.com
通讯作者: 刘锦波 E-mail: czljbjb@126.com

前脑来源的神经干细胞分化,而且通过调控某些重要基因的表达参与脑老化、小鼠海马发育、 γ -氨基丁酸(GABA)能神经元分化、少突胶质细胞髓鞘形成、G 蛋白偶联受体、环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(camp response element binding protein, CREB)分子介导的转录调节和钙调神经磷酸酶依赖的信号传导通路^[12]。近年来研究发现, LncRNA 与神经发育阶段的蛋白编码基因相关,对于神经细胞固有形态和特征的维持也有着重要作用^[9,10]。例如 Sox2 是神经干细胞分化和神经生长的重要调节因子,来源于 Sox2 的 LncRNA Sox2ot 是一段保守的转录序列,通过调控 Sox2 的编码基因,进而参与到神经干细胞分化和神经细胞的再生^[12,13]。

2.2 LncRNA 参与神经系统功能的行使

神经系统功能的行使主要依靠神经通路,神经通路是神经系统功能的体现^[14,15],而完整的神经通路不仅仅需要神经元细胞,更需要依赖传递过程中产生的一系列复杂动态变化的介质和信使。LncRNA 出现在神经系统的某些区域,呈现特异性富集。Mercer 利用高通量芯片技术在成年小鼠脑内发现了 849 条 LncRNA,且大部分 LncRNA 特异性分布在的脑解剖区域、细胞类型和亚细胞器内;许多 LncRNA 分布在海马皮层嗅球和小脑,并呈现显著的特异性;这些在特定区域出现的 LncRNA 参与了该区域某些特殊的神经细胞活动,同时也参与了各区域间功能连接的分子机制和神经网络结构^[16]。LncRNA 通过调控神经传导的中间产物的基因表达参与到神经系统功能的行使。例如 BC1 是一种位于神经细胞树突的 LncRNA,通过结合转录因子而导致下游信使蛋白的变化,参与到突触后信号传递的调节,并且通过与真核起始因子 4A(eIF4A)和多聚腺苷酸结合蛋白的相互作用,阻碍核糖体 RNA 亚基与 mRNA 的结合抑制蛋白质的翻译过程,体内外研究已经证明,BC1 的缺失会引起神经的过度兴奋^[17]。LncRNA 还参与运动神经功能的完善。CRG 是脑内运动相关基因钙调蛋白依赖丝氨酸蛋白激酶(calmodulin-dependent serine protein kinase, CASK)下游的一个 LncRNA,CRG 是 CASK 启动子区募集 RNA 聚合酶的必要分子,并可增强 CASK 的表达;当果蝇的 LncRNA CRG 发生突变时,果蝇运动减少并出现攀爬障碍,此时检测发现 CASK 蛋白表达水平显著降低,人为使 CASK 表达水平恢复后,果蝇出现运动增多和攀爬障碍缓解^[18]。突触后神经元内复杂的信号转导被认为是突触可塑性的分子生物学基础,突触的可塑性对维持神经通路信号传导的稳定性有着有关键性的作用,它是学习和记忆行为的基础,而 LncRNA 在调节突触可塑性方面具有重要意义^[19]。LncRNA BC200 可选择性地定位于突触后神经元树突内,通过阻断转录起始来调节局部蛋白合成以影响信号转导和记忆行为的产生^[20]。

综上所述,LncRNA 参与了生理条件下的神经系统的生长发育和功能的行使。

3 LncRNA 在神经损伤修复过程中的作用

和其他损伤组织不同,神经系统损伤特别是中枢神经系统(central nervous system, CNS)在损伤后轴突不可再生。过去认为神经系统受到损伤不可再生的主要因素是神经系统损伤后的外源性(抑制因子、受损区域胶质瘢痕)因素^[21]。但研究^[22]证实,在消除外源性抑制因素之后,仅有少量的轴突再生,大量的神经元轴突仍没有获得再生的能力。因此,相比较神经损伤后的外源性因素,神经损伤的内源性因素更为重要。LncRNA 是近年来发现的具有内源性调控作用的一类 RNA,其调控机制复杂,种类繁多^[3]。研究神经损伤中的 LncRNA 表达谱变化可以为神经损伤后的神经再生提供新的治疗思路。

神经损伤具有高致残率、低死亡率的特点,目前尚无有效的治疗方法^[23]。近年来对于神经损伤的治疗策略主要包括干细胞增殖、分化以及神经元轴突伸长,LncRNA 不仅能够调控神经干细胞的干性,还可以通过调节神经再生过程中的靶蛋白来调控神经元细胞的再生和分化^[24]。

LncRNA 调控神经干细胞的干性。SOX2 是一种维持神经干细胞干性的经典分子^[25],而 LncRNA RMST 可以负向调节 SOX2 的表达,从而促进神经干细胞分化^[26]。REST 是位于 LncRNA RMST 上游的一种抑制神经再生的转录因子^[27,28],可以负向调节 LncRNA RMST 的转录,在神经干细胞中 LncRNA RMST 很少表达,而 SOX2 表达正常,神经干细胞干性得到了维持。当神经干细胞分化时,REST 表达下降,促进了 LncRNA RMST 的增加,进而结合 SOX2 负向调节神经干细胞干性^[26]。神经系统在损伤后出现了 LncRNA 的差异性表达。在体外,取孕鼠的大脑皮层神经元,通过模拟体内缺血性神经损伤之后,基因芯片分析 LncRNA 和 mRNA 表达谱发现大约有 7455 个 LncRNA 和 6965 个 mRNA 发生了差异性表达,该差异性表达的 LncRNA 和 mRNA 与神经再生相关因子(Abl1、Camk2d、Ntrk2、BDNF)、细胞粘附因子(Cdh4、Itgb1、Ncam1、Negr1、Nrxa1)和细胞周期相关因子(Axin2、Fgfr1、Igf1r、Prkcb)相关^[29]。LncRNA 参与了神经系统再生过程。对损伤一定时间后的大鼠坐骨神经的 LncRNA 和 mRNA 表达谱进行分析,发现 105 个 LncRNA 出现差异性表达,差异性表达的 LncRNA 和 mRNA 的功能主要是胶质细胞迁移,并与 MAPK 通路相关度较高,随后降低细胞内 LncRNA BC089918 表达水平,发现神经细胞轴突变长,表明 LncRNA 对神经再生起着抑制作用^[30]。

综上,LncRNA 不仅维持神经干细胞干性,而且通过调控下游蛋白的表达,促进或抑制神经再生。

4 展望

随着基因调控研究的深入和更多生物学方法的出现,LncRNA 的功能被更多的挖掘,学者们已经发现一些 LncRNA 在神经损伤中发挥着重要的作用。目前 LncRNA 的功能和机制尚处于研究阶段,但已经证实 LncRNA 参与调节神经干细胞干性、增殖和分化以及神经元轴突的伸长。我们认为神经损伤的治疗策略应该包括神经干细胞增

殖分化来补充缺损的神经元细胞,且对已有神经细胞轴突伸长和恢复神经细胞相关结构来维持神经元细胞的功能,我们相信,对 lncRNA 的深入研究可能为神经损伤,尤其是中枢神经损伤这一世界难题的解决带来曙光。

5 参考文献

- Clark MB, Johnston RL, Inostroza-Ponta M, et al. Genome-wide analysis of long noncoding RNA stability [J]. *Genome Res*, 2012, 22(5): 885-898.
- Okazaki Y, Furuno M, Kasukawa T, et al. Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs[J]. *Nature*, 2002, 420(6915): 563-573.
- Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3): 155-159.
- Ng SY, Lin L, Soh BS, et al. Long noncoding RNAs in development and disease of the central nervous system [J]. *Trends Genet*, 2013, 29(8): 461-468.
- Ulitsky I, Shkumatava A, Jan CH, et al. Conserved function of lincRNAs in vertebrate embryonic development despite rapid sequence evolution[J]. *Cell*, 2011, 147(7): 1537-1550.
- Klattenhoff CA, Scheuermann JC, Surface LE, et al. Braveheart, a long noncoding RNA required for cardiovascular lineage commitment[J]. *Cell*, 2013, 152(3): 570-583.
- Han Z, He H, Zhang F, et al. Spatiotemporal expression pattern of Mirg, an imprinted non-coding gene, during mouse embryogenesis[J]. *J Mol Histol*, 2012, 43(1): 1-8.
- Han Z, Liu Q, Huang Z, et al. Expression and imprinting analysis of AK044800, a transcript from the Dlk1-Dio3 imprinted gene cluster during mouse embryogenesis [J]. *Mol Cells*, 2013, 35(4): 285-290.
- Lv J, Liu H, Huang Z, et al. Long non-coding RNA identification over mouse brain development by integrative modeling of chromatin and genomic features [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(22): 10044-10061.
- Ng SY, Johnson R, Stanton LW. Human long non-coding RNAs promote pluripotency and neuronal differentiation by association with chromatin modifiers and transcription factors [J]. *Embo J*, 2012, 31(3): 522-533.
- Guttman M, Amit I, Garber M, et al. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals[J]. *Nature*, 2009, 458(7235): 223-227.
- 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(2): 223-230.
- Wegner M. From head to toes: the multiple facets of Sox proteins[J]. *Nucleic Acids Res*, 1999 27(6): 1409-1420.
- Llinas RR. The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function [J]. *Science*, 1988, 242(4886): 1654-1664.
- Hartwell LH, Hopfield JJ, Leibler S, et al. From molecular to modular cell biology[J]. *Nature*, 1999, 402(6761 Suppl): C47-52.
- Wang H, Iacoangeli A, Lin D, et al. Dendritic BC1 RNA in translational control mechanisms[J]. *J Cell Biol*, 2005, 171(5): 811-821.
- Li M, Wen S, Guo X, et al. The novel long non-coding RNA CRG regulates Drosophila locomotor behavior[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(22): 11714-11727.
- Song, S, Miller KD, Abbott LF. Competitive hebbian learning through spike-timing-dependent synaptic plasticity [J]. *Nat Neurosci*, 2000, 3(9): 919-926.
- Kondrashov AV, Kieffmann M, Ebnet K, et al. Inhibitory effect of naked neural BC1 RNA or BC200 RNA on eukaryotic in vitro translation systems is reversed by poly(A)-binding protein(PABP)[J]. *J Mol Biol*, 2005, 353(1): 88-103.
- Cregg JM, DePaul MA, Filous AR, et al. Functional regeneration beyond the glial scar [J]. *Exp Neurol*, 2014, 253: 197-207.
- Aguiayo AJ, Bray GM, Carter DA, et al. Regrowth and connectivity of injured central nervous system axons in adult rodents[J]. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 1990, 50(4-5): 381-389.
- DeVivo MJ, Go BK, Jackson AB. Overview of the national spinal cord injury statistical center database [J]. *J Spinal Cord Med*, 2002, 25(4): 335-338.
- 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.
- Suh H, Consiglio A, Ray J, et al. In vivo fate analysis reveals the multipotent and self-renewal capacities of Sox2+ neural stem cells in the adult hippocampus [J]. *Cell Stem Cell*, 2007 1(5): 515-528.
- 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.
- Abrajano JJ, Qureshi IA, Gokhan S, et al. REST and CoREST modulate neuronal subtype specification, maturation and maintenance[J]. *PLoS One*, 2009, 4(12): e7936.
- Gao Z, Ure K, Ding P, et al. The master negative regulator REST/NRSF controls adult neurogenesis by restraining the neurogenic program in quiescent stem cells [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(26): 9772-9786.
- Kaur P, Karolina DS, Sepramaniam S, et al. Expression profiling of RNA transcripts during neuronal maturation and ischemic injury[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e103525.
- 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*, 2013, 534: 117-122.

(收稿日期:2014-11-15 修回日期:2015-01-26)

(本文编辑 彭向峰)