

红细胞生成相关长链非编码 RNA 的研究进展

孙士鹏 刘贵建

摘要 长链非编码 RNA(lncRNA)是一类转录本长度 >200nt 的非蛋白质编码 RNA。lncRNA 是一种功能性 RNA 分子,参与了细胞分裂、分化、生存等重要过程的调控。近年来红细胞生成相关长链非编码 RNA 的功能也相继被揭示,本文就相关研究进展进行综述。

关键词 长链非编码 RNA 红细胞生成 非编码 RNA

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.06.002

传统观念认为 RNA 的功能主要包括以下几个方面:作为核糖体的组成成分、信使 RNA 和转运 RNA。哺乳动物基因组大约有 2/3 会被转录出来,这些转录本中仅有 2% 为蛋白质编码的信使 RNA,其余大量的转录本则为非蛋白质编码的 RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)^[1]。根据序列长度可以把 ncRNA 分为两大类:一类为长度 >200nt 的长链非编码 RNA(long non-coding RNAs, lncRNAs),一类是长度 <200nt 短片段非编码 RNA(small ncRNAs)比如管家 RNAs(一些 rRNAs、snRNA、snoRNA)、microRNA(miRNA)、内源性短干扰 RNAs 和 piRNA 等。近年来随着高通量测序技术和转录组分析技术的发展,ncRNA 尤其是 miRNA 的生化功能的研究进展颠覆了人们对 RNA 的传统认知观念,miRNA 可以通过与靶基因 3'UTR 区互补结合,抑制靶基因翻译成蛋白质,进而在细胞、组织或个体水平上影响生物体的生长发育,并参与免疫反应和肿瘤等多种疾病过程^[2-5]。miRNA 能够作为相关疾病诊断和预测的标志物以及治疗的靶点^[6]。红系细胞分化过程不同阶段相关基因转录后水平的调控也有 miRNA 参与^[7-9]。相比于 miRNA 的研究,大部分 lncRNA 的功能目前尚不清楚,主要原因是 lncRNA 并非通过单一模式发挥作用,其功能涉及到染色质修饰和信号转导等多种途径^[10]。尽管 lncRNA 调控机制复杂,仍然有一些 lncRNAs 的生物学功能相继被揭示,这些 lncRNA 参与了机体的基因组印记(H19 和 Air)、X 染色体失活(Xist)、干细胞分化(lincRNA-RoR)、肿瘤转移

(HOTAIR)等过程^[11-13]。一些 lncRNAs 还参与了机体造血过程,如人类 lncRNAs EGO 和 HOTAIRM1 分别参与了嗜酸性粒细胞和髓系细胞分化相关的基因表达调控^[14-16]。红系细胞的发育分化过程中也有一些 lncRNA 参与,本文就相关的进展做一综述。

一、lncRNA 生物学

lncRNA 之所以命名为长片段 RNA,其目的主要用来区分短片段非编码 RNA。尽管一些 lncRNAs 长度可能超过 100kb,实际上大部分 lncRNA 并不长,DNA 元素百科全书(encyclopedia of DNA elements, Encode)项目揭示 lncRNAs 平均长度 <600nt,而蛋白质编码的 RNA 的平均长度则接近 2500nt^[17]。lncRNA 存在含有 poly-A 尾和不含 poly-A 尾两种形式。其细胞定位分布在细胞核内或细胞质内,表达水平较蛋白质编码 RNA 低。lncRNA 具有跨物种的低保守性,组织特异性表达的特点。大多数 lncRNA 的编码基因能够被细胞特异性的核内因子结合,由常见的启动子启动转录并被剪接^[18]。一些 lncRNAs 与增强子区域相关,并且这样的非编码转录与邻近基因活性增高有关联,增强子相关的 lncRNAs 可以远距离及跨染色体发挥作用激活远端启动子转录^[19,20]。

根据 lncRNA 在基因组上相对于蛋白编码基因的位置,可以将其分为以下 5 类:①正义(sense):位于蛋白编码基因的 1 个或多个外显子的同一条链上;②反义(antisense):位于蛋白编码基因的 1 个或多个外显子的反义链上;③基因内(intronic):位于蛋白编码基因的内含子区域;④双向(bidirectional):位于蛋白编码基因的反义链上,同蛋白编码基因共用 1 个启动子;⑤基因间(intergenic):位于两个蛋白编码基因之间^[21]。根据 lncRNA 在蛋白质编码基因位置进行的分类,有助于了解 lncRNA 的功能,尤其是反义 lncRNA

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81403192)

作者单位:100053 北京,中国中医科学院广安门医院检验科

通讯作者:刘贵建,电子信箱:liuguujian@163.com

cRNA。因为约 50% ~ 70% 的正义链转录本含有天然反义转录产物 (NATs), 在转录和转录后水平顺式调控相应正义链转录本的表达^[22]。除了位置上进行分类, 还可以根据 lncRNA 自身特点和功能进行分类, 可分为增强子 RNA (eRNAs)、lncRNA 激活 (lncRNA - a) 基因、转录超级保守区 (T - UCRs)、假基因、端粒相关 ncRNAs (TERRAs)、环状 RNA 等。

二、lncRNA 与红细胞生成

红细胞的主要功能是从肺部携带氧气转送外周组织, 健康个体持续每秒合成约 200 万的红细胞替代衰老的红细胞^[23]。这个新旧更替过程必须被严格控制以保证红细胞数量能够维持在一个很小的生理范围内。机体自我平衡的机制也能够失血或红细胞过早破坏的情况下, 迅速提高红细胞的生成。红细胞生成也受到一些 lncRNA 的表达调控, 相关研究尚处于起步阶段, 相关进展如下:

1. lncRNA 与造血干细胞: H19 基因编码 1 个 2.3kb 的非编码 RNA 分子, 高丰度表达于胚胎发育期, 主要集中表达于内胚层及中胚层来源的组织。H19 在胎肝表达量最高, 出生后表达下调。H19 由 RNA 聚合酶 - II (Pol II) 转录产生, 经过加帽和 polyA 加尾后在细胞核内和胞质均有表达, 开放读码框较短, 体内不合成蛋白质。胚胎期 H19 由母系等位基因转录通过顺式遗传印记调控胰岛素样生长因子 2 (Igf2), 同时 H19 编码的 miR - 675 能够下调父系等位基因 Igf2 的受体 (Igf1R) 的表达。新生红细胞的来源是造血干细胞 (HSC), Igf2 信号通路能够诱导静息造血干细胞启动分裂, 成熟为多谱系祖细胞, 最终生成特定血细胞中。H19 在长期 HSCs 中表达活跃, 在短期 HSCs 和多能潜能祖细胞中表达逐渐减低。因而, H19 在维持成年人 HSC 的静息状态中起到重要作用。

2. lncRNA 与红细胞成熟: lncRNA 在红细胞分化成熟及凋亡等方面也发挥着重要作用。2011 年 11 月 Hu 等发现小鼠胎儿肝脏到红细胞发育成熟, 能够表 400 多种 lncRNAs。在红细胞分化终末阶段表达的 lincRNA - EPS 能够抑制促进程序性细胞死亡的基因 Pycard 表达, 进而在最后的分化过程中保护红细胞不发生凋亡。因为红细胞成熟的最后一步是将细胞核从细胞中驱逐出去, 在很多方面类似于细胞凋亡, 这些发现可能对癌症也有意义, 因为阻止细胞发生凋亡是癌症演变特征性标志物之一。

2013 年 7 月, Hu 等对分化的小鼠胎肝红细胞进

行测序分析, 共鉴定出 655 个 lncRNA, 其中 100 多个为新发现的红系特异性 lncRNA。通过结合全基因组的染色质状态图谱、转录因子结合位点和组织中的表达特性分析的研究, 研究人员发现随着红系分化动态表达的多种 lncRNA 受到表观遗传调控, 一些 lncRNA 和红系分化关键的转录因子 GATA1、TAL1 和 klf1 结合。其中 12 种 lncRNA 在核内定位, 表现出复杂的发育表达模式, 敲除这些 lncRNA 后红细胞成熟严重受损, 并能抑制细胞体积减少和去核化。

Paralkar 等使用 RNA 测序技术在小鼠幼红细胞、巨核细胞和巨核系 - 红系祖细胞共鉴定出 1109 个含有 polyA 尾的 lncRNA, 在人的幼红细胞中鉴定出 594 个含有 polyA 尾的 lncRNA。通过对小鼠红系特异性表达的 21 个高峰 lncRNA 的 RNA 干扰试验筛选出 7 个能够抑制红细胞成熟的 lncRNA。值得注意的是, 这 7 个小鼠的 lncRNA 中仅有 1 个在人幼红细胞有表达, 其余 6 个均不能检测到。说明在哺乳动物中这些 lncRNA 并不保守。Arriaga 等对鸡 α - 珠蛋白基因编码区转录的 lncRNA - α GT 进行研究, 发现在鸡胚胎红细胞 5 天和 6 天 lncRNA - α GT 表达逐渐增高, 第 10 天表达显著增高。敲除 lncRNA - α GT 的表达后, α D 和 α A 的表达水平显著下调, H3K4me3 水平和组蛋白 H3、H4 乙酰化降低。这些结果说明 lncRNA - α GT 在红细胞发育晚期和终末期鸡对 α - 珠蛋白基因的表达起到重要作用。

3. lncRNA 与红细胞结构: 带 3 蛋白是存在于红细胞膜上的一种内在性蛋白质, 占红细胞膜蛋白质总量的 25%, 是膜骨架的主要附着点, 而且参与多种物质和信息的跨膜传递和功能调节, 其结构或含量上的任何变化都可能影响红细胞膜结构的完整性和整个细胞的应答变形能力。研究发现增强子区域转录的 alnc RNA - EC7 能够通过长距离的染色质相互作用结合 BAND3 基因的启动子区域并激活表达带 3 蛋白, 体内实验抑制 alnc RNA - EC7 的表达后会导致有核红细胞成熟受损, 去核效率下降。此研究表明 alnc RNA - EC7 参与红细胞膜结构的完整性和整个细胞的应答变形能力的调控。

lncRNA 的表达具有高度种属特异性, 一些 lncRNA 在红系细胞的分化和发育及成熟过程中起到关键作用, 这些 lncRNA 的功能涉及到表观遗传修饰、相关转录因子和基因的表达调控等。lncRNA 相关研究虽然才开始仅有几年的时间, 但是随着高通量测序等技术的应用, 多种疾病相关的 lncRNA 已被大

量的筛选出来,其中红系发育和成熟相关的 lncRNA 就已经发现成百上千种。但是这些 lncRNA 的功能研究仅是冰山一角,只有小部分的功能被揭示,大多数 lncRNA 功能仍然是未知的。笔者所在课题组在中药益髓生血颗粒治疗地中海贫血,取得了肯定疗效和领先的临床研究成果,创出了中医药治疗难治性遗传性贫血的新途径,益髓生血颗粒能提高 β -地中海贫血患者外周血 Hb、HbF、RBC,提高血红蛋白珠蛋白 mRNA 表达,提高造血刺激因子 GM-CSF mRNA 表达。笔者认为红系发育和成熟相关的 lncRNA 在益髓生血颗粒治疗地中海贫血的功效中也发挥重要作用,相信随着 lncRNA 等研究的深入,很有可能为贫血等相关疾病的治疗带来新的思路和突破。

参考文献

- Ulitsky I, Bartel DP. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms [J]. *Cell*, 2013, 154(1): 26-46
- Xiao C, Rajewsky K. MicroRNA control in the immune system: basic principles [J]. *Cell*, 2009, 136(1): 26-36
- Cheng Q, Yi B, Wang A, et al. Exploring and exploiting the fundamental role of microRNAs in tumor pathogenesis [J]. *Onco Targets Ther*, 2013, 6: 1675-1684
- Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease [J]. *Dev Cell*, 2006, 11(4): 441-450
- Mendell JT. MicroRNAs: critical regulators of development, cellular physiology and malignancy [J]. *Cell Cycle*, 2005, 4(9): 1179-1184
- Faruq O, Vecchione A. MicroRNA: diagnostic perspective [J]. *Front Med: Lausanne*. 2015, 2: 51
- Merkerova M, Belickova M, Bruchova H. Differential expression of microRNAs in hematopoietic cell lineages [J]. *Eur J Haematol*, 2008, 81(4): 304-310
- Chen SY, Wang Y, Telen MJ, et al. The genomic analysis of erythrocyte microRNA expression in sickle cell diseases [J]. *PLoS One*, 2008, 3(6): e2360
- Zhan M, Miller CP, Papayannopoulou T, et al. MicroRNA expression dynamics during murine and human erythroid differentiation [J]. *Exp Hematol*, 2007, 35(7): 1015-1025
- Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs [J]. *Mol Cell*, 2011, 43(6): 904-914
- Flynn RA, Chang HY. Long noncoding RNAs in cell-fate programming and reprogramming [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(6): 752-761
- Lee JT, Bartolomei MS. X-inactivation, imprinting, and long noncoding RNAs in health and disease [J]. *Cell*, 2013, 152(6): 1308-1323
- Tsai MC, Spitale RC, Chang HY. Long intergenic noncoding RNAs: new links in cancer progression [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(7): 3-7
- Paralkar VR, Weiss MJ. Long noncoding RNAs in biology and hematopoiesis [J]. *Blood* 2013, 121(24): 4842-4846
- Wagner LA, Christensen CJ, Dunn DM, et al. EGO, a novel, noncoding RNA gene, regulates eosinophil granule protein transcript expression [J]. *Blood*, 2007, 109(12): 5191-5198
- Zhang X, Lian Z, Padden C, et al. A myelopoiesis-associated regulatory intergenic noncoding RNA transcript within the human HOXA cluster [J]. *Blood*, 2009, 113(11): 2526-2534
- Dunham I, Kundaje A, Aldred SF, et al. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome [J]. *Nature*, 2012, 489(7414): 57-74
- 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
- Kim TK, Hemberg M, Gray JM, et al. Widespread transcription at neuronal activity-regulated enhancers [J]. *Nature*, 2010, 465(7295): 182-187
- Ørom UA, Shiekhattar R. Long noncoding RNAs usher in a new era in the biology of enhancers [J]. *Cell*, 2013, 154(6): 1190-1193
- Garitano-Trojaola A, Agirre X, Prósper F, et al. Long non-coding RNAs in haematological malignancies [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(8): 15386-15422
- Galante PA, Vidal DO, de Souza JE, et al. Sense-antisense pairs in mammals: functional and evolutionary considerations [J]. *Genome Biol*, 2007, 8(3): R40
- Paralkar VR, Weiss MJ. Genes Dev, a new 'Linc' between noncoding RNAs and blood development [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(24): 2555-2558
(收稿日期: 2015-11-02)
(修回日期: 2015-11-23)

(接第 132 页)

- 徐小群, 林才, 刘政军, 等. 负压封闭引流技术在 II 度烧伤患者创面的应用及手术室护理体会 [J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(10): 1705-1707
- 王倩, 仇旭光, 占卫兵, 等. 持续负压封闭引流治疗深度烧伤 35 例 [J]. *浙江实用医学*, 2011, 16(3): 199-200
- 黎明, 李卫, 柳向东, 等. 持续负压封闭引流技术在深度烧伤创面修复中的应用 [J]. *中国临床医学*, 2012, 19(4): 420-421
- Mouës CM, VosMC, van den Bemd GJ, et al. Bacterial load in relation

to vacuum-assisted closure wound therapy: a prospective randomized trial [J]. *Wound Repair Regen*, 2004, 12: 11-17

- 舒巍, 周忠志, 熊武, 等. 负压封闭引流在下肢慢性难愈性皮肤溃疡修复中的应用 [J]. *中国美容医学*, 2014, 23(24): 2038-2042
- 肖湘君, 朱勇, 刘鸣江. 持续负压封闭引流术在复杂创面修复中的临床应用研究 [J]. *中国医药导报*, 2012, 9(5): 47-48
- 彭明霞, 胡慧, 王凌. 人工皮负压封闭引流技术用于修复 II 度烧伤患者创面的护理 [J]. *湖北中医杂志*, 2012, 15(2): 49-50
(收稿日期: 2015-10-29)
(修回日期: 2015-11-20)