

长链非编码 RNA 在皮肤创伤愈合中的作用

王占宇 姜福全 崔彦

摘要 随着越来越多的航天员相继进入太空并驻留时间不断延长,航天员发生意外创伤和严重应激损伤的概率相应增多。由于太空环境极为特殊,伤情演变充满未知,救治条件极度受限,防控不当则严重威胁航天员健康和生命,并影响航天任务,相关研究亟待加强。皮肤创伤愈合过程是一个复杂而有序的生物学过程,这一过程涉及多种细胞、细胞因子和细胞外基质等错综复杂的网络作用。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)在表观遗传调控、转录调控以及转录后调控等多层面上调控基因的表达,除了在皮肤发育过程中发挥重要作用外,还参与了皮肤创伤愈合以及皮肤癌和其他皮肤疾病过程的调节。

关键词 lncRNA 皮肤 创伤愈合

中图分类号 R856

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.09.007

随着载人航天事业的蓬勃发展,人类对空间环境的认识不断深化。随着越来越多的航天员相继进入太空,并在太空的驻留时间不断延长以及舱外活动日益频繁,航天员发生意外创伤和严重应激损伤的概率相应增多。航天员在航天飞行环境中一旦发生比较严重的意外创伤及应激损伤,其伤情特点、急救处置和创面修复过程均有其特殊性。由于环境极为特殊,伤情演变充满未知,救治条件极度受限,防控不当则严重威胁航天员健康和生命,并影响航天任务,相关研究亟待加强^[1]。皮肤创伤愈合过程是一个复杂而有序的生物学过程,这一过程涉及多种细胞、细胞因子和细胞外基质等错综复杂的网络作用^[2]。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类本身不编码蛋白质、转录本长度在 200nt~100kb 之间的长链非编码 RNA 分子,它可在表观遗传调控、转录调控以及转录后调控等多层面上调控基因的表达^[3,4]。lncRNA 除了在皮肤发育过程中发挥重要作用外,还参与了皮肤创伤愈合以及皮肤癌和其他皮肤疾病过程的调节^[5]。本文对 lncRNA 在皮肤创伤愈合过程中作用的研究做一综述。

一、lncRNA 在皮肤发育中的作用

干细胞是一类具有自我复制和分化能力的多潜能细胞。在一定条件下可以分化为其他类型细胞、组

织及器官。皮肤中存在可以分化为毛囊、角质层和皮脂腺等各种皮肤组织的干细胞。研究证实,lncRNAs 对皮肤干细胞的自我更新和分化过程发挥重要作用。Lopez-Pajares 等^[6]在皮肤再生分化过程中运用动态转录分析技术确定皮肤干细胞中有 594 个基因富集,在早期和晚期阶段分别有 159 和 387 个基因富集;通过模块映射技术筛选了 1046 个转录因子,发现 MAF 和 MAFB 在皮肤干细胞分化过程中至少调节了 393 个基因;通过 siRNA 技术敲除 MAF 或 MAFB,结果显示分化标记基因 KRT1、FLG、LOR 的表达减弱,而同时敲除 MAF、MAFB 的效果则更加明显,表明 MAF 和 MAFB 在诱导分化过程中发挥重要作用;当诱导分化基因受损时,皮肤基底层细胞标志物 CCNB1、CDK1、DNMT1 的表达增多,而细胞周期抑制标志物 CDKN1A 的表达减少;分析确定 lncRNA ANCR 和 TINCR 是 MAF 和 MAFB 的上游调节因子;ChIP-seq 分析显示 MAF 和 MAFB 结合了已知的皮肤干细胞分化转录因子 GRHL3、ZNF750、KLF4、PRDM1 等,并控制其表达。

Kretz 等^[7]进一步验证发现,在 TINCR 缺失状态下 MAF 和 MAFB 仍具有诱导分化作用;ANCR 在一定程度上通过抑制 MAF 和 MAFB 的作用进而维持皮肤干细胞的未分化状态;TINCR 通过直接与 mRNA 结合并募集 STAU1 来调节 mRNA 的稳定性;研究发现 TINCR 可结合 MAF 和 MAFB 的 mRNA;当 TINCR 缺失时,MAF 的 mRNA 稳定性减弱,MAFB 的 mRNA 稳定性则受到明显影响;MAF 和 MAFB 的蛋白表达水平也相应减弱;关于 ANCR 抑制皮肤干细胞诱导分化基因的机制目前尚不清楚。Rinn 等^[8]敲除皮肤干

基金项目:全军医学科研“十二五”重点项目(BWS11J051);全军试验技术研究计划重点项目(SYFD1500128)

作者单位:100101 北京,安徽医科大学中国人民解放军第 306 医院教学医院(王占宇、崔彦);中国人民解放军第 306 医院普通外科(姜福全、崔彦)

通讯作者:崔彦,电子信箱:dryancui@aliyun.com

细胞 lncRNA HOTAIR, 结果发现对 HOXC 基因簇的转录没有影响, 但却导致了 HOXD 基因簇在 40kb 区域的一段转录抑制丢失, 转录抑制标志物三甲基化组蛋白 H3K27 与核心蛋白复合体 PRC2 在 HOXD 基因簇中消失, 结果表明 HOXC 基因簇中 HOTAIR 在皮肤干细胞分化过程中发挥作用。一些列研究引发了皮肤领域学者探究 lncRNA 功能的浓厚兴趣。从目前情况看, 这方面的研究仅仅揭开了 lncRNA 复杂功能的冰山一角。

二、lncRNA 在皮肤创伤愈合中的作用

皮肤创伤愈合过程复杂而有序, 该过程可分为 3 个阶段: ①炎症反应阶段: 主要表现为凝血和炎症反应; ②增殖阶段: 包括再上皮化、血管新生和肉芽组织形成等, 其中角质细胞的增殖和迁移是皮肤愈合过程中最重要的阶段; ③组织重塑阶段: 主要为胶原沉积、重塑及胶原纤维生成^[9]。

1. lncRNA 在皮肤创伤愈合炎症反应阶段的作用: 当皮肤受到创伤时, 中性粒细胞迅速进入损伤区域, 分泌大量趋化因子, 诱导血液中的单核细胞进入局部创伤组织成为巨噬细胞, 与中性粒细胞分泌的活性酶协同作用, 包括在一定程度上杀伤某些微生物。研究发现, 免疫细胞中有 lncRNAs 表达, 但对其功能还尚缺乏认识^[10]。Atianand 等^[11]确定在巨噬细胞内存在一种免疫调节 lincRNA (lincRNA - EPS), 其能精确调控免疫应答基因 (immune response genes, IRGs) 表达。该研究通过对 lncRNA - EPS 敲除小鼠的巨噬细胞进行转录组分析, 发现 lncRNA - EPS 定位于 IRGs 管制区域, 具有控制核小体定位和抑制转录的作用, 进而抑制 IRGs 表达; 内毒素作用于 lncRNA - EPS 缺失动物后, 炎症反应剧烈, 病死率上升。Carpenter 等^[12]研究发现模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 如 Toll 样受体 (toll - like receptors) 能诱导产生大量的 lncRNAs, 其中 lncRNA - Cox2 调控免疫相关基因的激活和转录表达, 行使炎症反应信号通路的决定性调控作用。另有研究发现, lncRNA - THRIL、lncRNA - lnc13 和 AS - IL - 1 α 等均在基因水平参与炎症反应^[13-15]。

辅助性 T 细胞 17 (Th17) 具有防御黏膜感染的屏障功能, 同时在诸多慢性炎症性疾病中发挥作用, 而 Th17 的功能效应则受 lncRNA - Rmrp 的调节^[16]。Gomez 等^[17]研究证实 T 细胞中 lncRNA - NeST 调节 IFN - γ 的表观遗传标记和对病原菌的敏感度。另有研究表明, lncRNA - NEAT1 参与 TLR2 介导的先天

免疫调节, 沉默 NEAT1 表达能明显下调一部分 TLR2 活化诱导的细胞因子、趋化因子, 包括 IL - 6、CXCL10、CCL2、CCL8 和 CXCL11 等^[18]。Zhao 等^[19]研究发现 lncRNA - MALAT1 在脂多糖激活的巨噬细胞内表达水平上调, 同时发现 MALAT1 对细胞核内的 NF - κ B 也有作用, 可通过抑制 DNA 结合活性进而减少炎症因子的含量。上述研究表明, 在炎症反应过程中 lncRNAs 发挥广泛作用, 而其在皮肤创伤愈合炎症反应阶段的作用和机制有待进一步研究。

2. lncRNA 在皮肤创伤愈合细胞增殖阶段的作用: 在皮肤创伤愈合过程中, 细胞增殖是表皮再生的重要阶段。Sun 等^[20]在 RNA 测序后用激光捕获显微切割技术证明钙调素 5 (calmodulin - like 5, CALML5) 是皮肤干细胞分化形成表皮过程中表达最丰富的一种基因; 敲除 CALML5 后影响皮肤干细胞的分化, 导致透明角质颗粒消失和表皮屏障功能的破坏; CALML5 和基底层的分层蛋白/14 - 3 - 3 σ (SFN) 相互作用, 共同调控约 13% 的后期分化基因; 同时发现, CALML5 经 ZNF750 转录子上调表达, 之后通过 lncRNA - TINCR 发挥稳定调控作用, 认为这是上皮分化过程中的基本信号通路。瘢痕疙瘩是皮肤损伤后引发胶原异常积聚所致的过度瘢痕化^[21]。胡洋红等^[22]研究发现增生性瘢痕中 lncRNA 表达谱发生了明显变化, 其中 H19 与 p53 结合并抑制 p53 的活性, 降低 p53 下游靶基因 Bax (凋亡相关基因) 的水平, 进而促进细胞增殖; HOXAIR 通过 PRC2 复合物作用于生长/分化因子 15 (growth/differentiation factor 15, GDF15) 基因, 间接影响细胞增殖、凋亡和细胞周期进程, 这些差异表达的 lncRNA 可能通过其靶基因影响细胞的生长、增殖、凋亡以及胶原蛋白代谢等多环节, 从而在增生性瘢痕的发生和发展的中起重要的调控作用。

TGF - β 信号通路的异常高激活状态与瘢痕疙瘩的发生、发展密切相关。Zhu 等^[23]研究 lncRNA - ATB 影响瘢痕疙瘩成纤维细胞 (keloid fibroblasts, KFs) 的 TGF - β 自分泌分子机制, 结果表明 TGF - β 的转录激活剂 ATB 和 ZNF217 呈过表达状态, miR - 200c 在瘢痕组织和瘢痕疙瘩成纤维细胞中低表达; 并通过功能获得和缺失实验证明, 敲除 lncRNA - ATB 后弱化了 TGF - β_2 自分泌和 ZNF217 表达, 但却提高了 miR - 200c 在 KFs 中的表达; ZNF217 的下调进一步减少了 TGF - β_2 的自分泌, 同时发现, miR - 200c 与 lncRNA - ATB 具有内在联系, 抑制 miR -

200c 可缓冲 KFs 的 ZNF217 表达减少情况。章杰等^[24]探讨 lncRNA - H19 在人体瘢痕疙瘩组织中的表达情况及对瘢痕疙瘩成纤维细胞增殖的影响及机制,发现 H19 siRNA 转染后成纤维细胞的增殖明显受到抑制,结论认为下调 lncRNA - H19 表达可抑制瘢痕疙瘩成纤维细胞的增殖。李焯等^[25]研究发现,瘢痕疙瘩中特异性表达增高的 lncRNA - CAS1 可能促进了钙通道蛋白 CACNA1G、I 型胶原蛋白的表达,并对细胞迁移有积极影响。高景等^[26]研究探讨 mTOR 抑制剂雷帕霉素对体外培养瘢痕疙瘩成纤维细胞生物学特性的影响和自噬作用,以及其对 mTOR 信号通路和白噬相关非编码 RNA 表达的调控,结果发现自噬相关 lncRNA - FLJ11812 表达增加,而 miR - 30a、lncRNA - HULC 表达减少,推断雷帕霉素对瘢痕疙瘩成纤维细胞的生长具有抑制作用,而对其凋亡无显著影响,但可以通过抑制 mTOR 信号通路的活化以及调控自噬相关 lncRNA 表达而激活其自噬作用。

近年来低剂量电离辐射(low doses of ionizing radiation, LDIR)对机体的影响成为一热点问题。大剂量电离辐射对机体细胞和分子的影响已基本明确,但有关 LDIR 对细胞和分子的影响还知之甚少。Ding 等^[27]研究低剂量电离辐射(10cGy)照射人类皮肤模型 EpiDermFT 后基因表达的情况,发现在 LDIR 条件下有 3299 个差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),其中有特征性的 lncRNAs,进一步研究发现, LDIR 条件下细胞增殖相关调节基因表达、KRAS 信号通路和 NF - κ B 转录目标均明显增强。

3. lncRNA 在皮肤创伤愈合组织重塑阶段的作用:目前关于 lncRNA 在皮肤创伤愈合组织重塑阶段的研究报道尚少。孤雌生殖的胚胎干细胞(pES)是在没有破坏胚胎的前提下通过人工手段激活的具有多向分化潜能的卵母细胞,其具有较少的伦理学问题,且已被批准用于自体干细胞治疗。然而 pES 细胞带有的例如父本印记基因 lncRNA - H19 的相对高表达,可能对谱系的分化有不利影响。Yin 等^[28]通过 shRNA 技术敲除小鼠 pES 细胞的 H19 基因,结果并未影响细胞的自我更新和多向分化潜能;下调 H19 基因的表达促进了 pES 细胞分化为皮肤干细胞,敲除 H19 基因能促进 pES 细胞分化为心肌细胞并增强其收缩能力;减少 H19 基因提高了 pES 细胞的外胚层和中胚层分化,说明缺失印记基因是可调控的,体现出 pES 细胞做为干细胞治疗的巨大潜力。另有研

究发现, lncRNAs 在包括 DNA 损伤和修复等广泛的生物学行为过程中发挥重要作用。lncRNAs 具有调节基因表达的功能,敲除人成纤维细胞的诱导型损伤敏感 RNA1 即导致基因表达变化,藉此进行基因靶向治疗有望达到诱导分化重塑的目的。

Michalik 等研究发现不同来源的内皮细胞高度表达保守的 lncRNA - MALAT1、TUG1、MEG3、linc00657 和 linc00493。内皮细胞在低氧刺激下显著高表达 MALAT1 并控制其表型转化;通过 siRNA 或 GapmeRs 技术可诱导预刺激反应进而增强基底部细胞的萌发和迁移。体内实验证实,敲除 lncRNA - MALAT1 基因可抑制内皮细胞增殖并减少新生视网膜血管生成,抑制 MALAT1 可降低血流恢复速度和毛细血管密度;并证实沉默 MALAT1 可影响多种细胞周期调节因子相关基因的表达。显然,借鉴上述研究有益于进一步探讨 lncRNA 在皮肤创伤愈合组织重塑阶段的作用及机制。

综上所述, lncRNA 是内源性的非编码 RNA,数量多,结构多样,作用机制复杂,不同组织不同器官都有其特异的 lncRNA 表达。尽管大量研究证明 lncRNA 在皮肤内稳态,并在皮肤相关疾病发病机制以及创伤愈合调控过程中发挥作用,然而,对于 lncRNA 的认识尚处于起步阶段,其在皮肤发育调节、慢性创伤修复以及瘢痕治疗过程中的精准作用和机制以及临床意义亟待深入研究。

参考文献

- 1 李雨霏,孙宏伟,崔彦. 失重环境中创伤和应激损伤与修复的研究进展[J]. 解放军医药杂志, 2015, 27(6):19-23
- 2 Wilhelm KP, Wilhelm D, Bielfeldt S. Models of wound healing: an emphasis on clinical studies[J]. Skin Res Technol, 2016, doi: 10.1111/srt.12317
- 3 Xing YH, Bai Z, Liu CX, *et al.* Research progress of long noncoding RNA in China[J]. IUBMB Life, 2016, 68(11):887-893
- 4 崔宏伟,苏秀兰. 长链非编码 RNA 在肿瘤中的研究进展[J]. 医学研究杂志, 2015, 45(4):4-7
- 5 Chen LL. Linking long noncoding RNA localization and function[J]. Trends Biochem Sci, 2016, 41(9):761-772
- 6 Lopez - Pajares V, Qu K, Zhang J, *et al.* A lncRNA - MAF: MAFB transcription factor network regulates epidermal differentiation[J]. Dev Cell, 2015, 32(6):693-706
- 7 Kretz M, Siprashvili Z, Chu C, *et al.* Control of somatic tissue differentiation by the long non - coding RNA TINCR[J]. Nature, 2013, 493(7431):231-235
- 8 Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, *et al.* Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs[J]. Cell, 2007, 129(7):1311-1323

- 9 Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006,117(Suppl 7):12-34
 - 10 Atianand MK, Fitzgerald KA. Long non-coding RNAs and control of gene expression in the immune system[J]. *Trends Mol Med*, 2014, 20(11):623-631
 - 11 Atianand MK, Hu W, Satpathy AT, *et al.* A Long noncoding RNA lincRNA-EP5 acts as a transcriptional brake to restrain inflammation[J]. *Cell*, 2016, 165(7):1672-1685
 - 12 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
 - 13 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 USA*, 2014, 111(3):1002-1007
 - 14 Castellanos-Rubio A, Fernandez-Jimenez N, Kratchmarov R, *et al.* A long noncoding RNA associated with susceptibility to celiac disease[J]. *Science*, 2016, 352(6281):91-95
 - 15 Chan J, Atianand M, Jiang Z, *et al.* Cutting edge: a natural antisense transcript, AS-IL1 α , controls inducible transcription of the proinflammatory cytokine IL-1 α [J]. *J Immunol*, 2015, 195(4):1359-1363
 - 16 Huang W, Thomas B, Flynn RA, *et al.* DDX5 and its associated lncRNA Rmrp modulate TH17 cell effector functions[J]. *Nature*, 2015, 528(7583):517-522
 - 17 Gomez JA, Wapinski OL, Yang YW, *et al.* The NeST long ncRNA controls microbial susceptibility and epigenetic activation of the interferon- γ locus[J]. *Cell*, 2013, 152(4):743-754
 - 18 张飞飞,沈南,唐元家. LncRNA NEAT1 参与 TLR2 介导的炎症因子的表达[J]. *现代免疫学*, 2015, 35(4):316-321
 - 19 Zhao G, Su Z, Song D, *et al.* The long noncoding RNA MALAT1 regulates the lipopolysaccharide-induced inflammatory response through its interaction with NF- κ B[J]. *FEBS Lett*, 2016, 590(17):2884-2895
 - 20 Sun BK, Boxer LD, Ransohoff JD, *et al.* CALML5 is a ZNF750- and TINCR-induced protein that binds stratifin to regulate epidermal differentiation[J]. *Genes Dev*, 2015, 29(21):2225-2230
 - 21 Berman B, Maderal A, Raphael B. Keloids and hypertrophic scars: pathophysiology, classification, and treatment[J]. *Dermatol Surg*, 2017, 43:S3
 - 22 胡洋红. 非编码 RNA 在人增生性瘢痕中的表达研究[D]. 南昌:南昌大学医学院南昌大学, 2014
 - 23 Zhu HY, Bai WD, Li C, *et al.* Knockdown of lncRNA-ATB suppresses autocrine secretion of TGF- β 2 by targeting ZNF217 via miR-200c in keloid fibroblasts[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:24728
 - 24 章杰,李文芳,王芳,等. 长链非编码 RNA H19 对瘢痕疙瘩成纤维细胞增殖的影响[J]. *实用中西医结合临床*, 2013, 13(9):1-3,9
 - 25 李烨. 长链非编码 RNA CACNA1G-AS1 在瘢痕疙瘩中的功能探究[D]. 北京:北京协和医学院, 2015
 - 26 高景,焦虎,曹蕊,等. 雷帕霉素诱导瘢痕疙瘩成纤维细胞自噬的作用及机制[J]. *中华整形外科杂志*, 2016, 32(3):208-214
 - 27 Ding X, Cheng L, Chen W, *et al.* Integrative analysis of gene expression in response to low-dose ionizing radiation in a human skin model[J]. *Med Oncol*, 2015, 32(6):621
 - 28 Yin Y, Wang H, Liu K, *et al.* Knockdown of H19 enhances differentiation capacity to epidermis of parthenogenetic embryonic stem cells[J]. *Curr Mol Med*, 2014, 14(6):737-748
 - (收稿日期:2016-12-07)
 - (修回日期:2016-12-25)
-
- (上接第 10 页)
- 16 Lv H, Zhang L, Yang F, *et al.* A novel 3D-printed device for localization and extraction of trabeculae from human femoral heads: a comparison with traditional visual extraction[J]. *Osteoporos Int*, 2015, 26(6):1791-1799
 - 17 Shuang F, Hu W, Shao Y, *et al.* Treatment of intercondylar humeral fractures with 3D-printed osteosynthesis plates[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(3):e2461
 - 18 Wu C, Tan L, Lin X, *et al.* Clinical application of individualized reference model of sagittal curves and navigation templates of pedicle Screw by three-dimensional printing technique for thoracolumbar fracture with dislocation[J]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2015, 29(11):1381-1388
 - 19 Hochman JB, Rhodes C, Wong D, *et al.* Comparison of cadaveric and isomorphic three-dimensional printed models in temporal bone education[J]. *Laryngoscope*, 2015, 125(10):2353-2357
 - 20 Li Z, Li Z, Xu R, *et al.* Three-dimensional printing models improve understanding of spinal fracture - A randomized controlled study in China[J]. *Sci Rep*, 2015, 23(5):11570
 - 21 Tortorici GJD. *Anatomie and Physiologie*[M]. Weinheim: Wiley-VHC, 2006
 - 22 Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, *et al.* American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics - 2013 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2012, 127(1):e6-e245
 - 23 Pinnock CB, Meier EM, Joshi NN, *et al.* Customizable engineered blood vessels using 3D printed inserts[J]. *Methods*, 2015, 99:20-27
 - 24 Bertassoni LE, Cecconi M, Manoharan V, *et al.* Hydrogel bioprinted microchannel networks for vascularization of tissue engineering constructs[J]. *Lab Chip*, 2014, 14(13):2202-2211
 - 25 Miller JS, Stevens KR, Yang MT, *et al.* Rapid casting of patterned vascular networks for perfusable engineered three-dimensional tissues[J]. *Nat Mater*, 2012, 11(9):768-774
 - (收稿日期:2016-12-26)
 - (修回日期:2017-01-04)