

- 832.
- [16] Reardon LC, Williams RJ, Houser LS, et al. Usefulness of serum brain natriuretic peptide to predict adverse events in patients with the Eisenmenger syndrome [J]. *Am J Cardiol*, 2012, 110 (10): 1523–1526.
- [17] Diller G-P, Alonso-Gonzalez R, Kempny A, et al. B-type natriuretic peptide concentrations in contemporary Eisenmenger syndrome patients: predictive value and response to disease targeting therapy [J]. *Heart*, 2012, 98 (19): 736–742.
- [18] Barst RJ, Ivy DD, Foreman AJ, et al. Four- and seven-year outcomes of patients with congenital heart disease — associated pulmonary arterial hypertension (from the REVEAL registry) [J]. *Am J Cardiol*, 2014, 113 (1): 147–155.
- [19] Schuurin MJ, van Riel AC, Vis JC, et al. New predictors of mortality in adults with congenital heart disease and pulmonary hypertension: Midterm outcome of a prospective study [J]. *Int J Cardiol*, 2015, 181 ( ): 270–276.
- [20] Mocerri P, Dimopoulos K, Liodakis E, et al. Echocardiographic predictors of outcome in Eisenmenger syndrome [J]. *Circulation*, 2012, 126 (12): 1461–1468.
- [21] D'Alto M, Dimopoulos K, Budts W, et al. Multimodality imaging in congenital heart disease-related pulmonary arterial hypertension [J]. *Heart*, 2016, 102 (12): 910–918.
- [22] Thomas IC, Glassner-Kolmin C, Gomberg-Maitland M. Long-term effects of continuous prostacyclin therapy in adults with pulmonary hypertension associated with congenital heart disease [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168 (4): 4117–4121.
- [23] Li F, Xia W, Yuan S. Acute inhibition of Rho-kinase attenuates pulmonary hypertension in patients with congenital heart disease [J]. *Pediatr Cardiol*, 2009, 30 (3): 363–366.
- [24] Scognamiglio G, Kempny A, Price LC, et al. C-reactive protein in adults with pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease and its prognostic value [J]. *Heart*, 2014, 100 (17): 1335–1341.
- [25] Silvia Favilli, Gaia Spaziani. Advanced therapies in patients with congenital heartdisease-related pulmonary arterial hypertension: results from a long-term, single center, real-world follow-up [J]. *Intern Emerg Med*, 2015, 10 (4): 445–450.
- [26] Dimopoulos K, Inuzuka R, Goletto S, et al. Improved survival among patients with Eisenmenger syndrome receiving advanced therapy for pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2010, 121 (1): 20–25.

(收稿日期: 2017—12—05)

## 长链非编码 RNA 在心脏移植免疫耐受中的研究进展

谭春淼, 张 烁

**摘要:** 长链非编码 RNA (lncRNA) 在生物体内广泛存在, 参与调节包括染色质重塑、基因转录、RNA 剪接和蛋白质转运等不同的生物学和生理过程, 从而调节细胞增殖、分化、凋亡、发育和免疫应答。关于 lncRNA, 已经在基因印迹、癌症疾病、神经系统疾病和免疫细胞分化研究中取得了一定成果, 而在调节心脏移植免疫耐受方面了解甚少。本文主要就 lncRNA 在心脏移植免疫耐受方面的研究进展作一综述。等等

**关键词:** 心脏移植; RNA, 未翻译; 免疫耐受

**文章编号:** 1008-0074 (2019) 02-259-04

**中图分类号:** R654.209

**文献标识码:** A

**Doi:** 10.3969/j.issn.1008-0074.2019.02.33

**Research progress of long noncoding RNA in immune tolerance in heart transplantation/TAN Chun-miao, ZHANG Shuo//Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China**

**Corresponding author: ZHANG Shuo, E-mail: 234011567@qq.com**

**Abstract:** Long noncoding RNA (lncRNA) exists widely in organism. It is involved in regulatory function, including chromatin remodeling, gene transcription, RNA splicing and transport of proteins etc. various biological and physiological process, so regulating cell proliferation, differentiation, apoptosis, growth and immune response. Certain results have been achieved in gene imprinting, cancer diseases, nervous system disease and immune cell differentiation researches about lncRNA, but there's few researches about its regulation of immune tolerance in heart trans-

**作者单位:** 哈尔滨医科大学附属第二医院心内科, 黑龙江 哈尔滨, 150001

**通讯作者:** 张 烁, E-mail: 234011567@qq.com

plantation. The present article made a review mainly on research progress of lncRNA in immune tolerance in heart transplantation.

**Key words:** Heart transplantation; RNA, untranslated; Immune tolerance

器官移植是终末期疾病最有效的治疗方法。移植排斥是移植长期存活的主要限制因素,所以诱导移植物的可持续免疫耐受成为了移植长期存活的主要目标之一。最新证据表明,长链非编码 RNA (lncRNA) 是免疫细胞分化<sup>[1]</sup>、先天免疫系统和适应性免疫系统激活的重要调节因子,在调节免疫功能和自身免疫中起关键作用。尽管研究已经发现移植期间诱导免疫耐受的多种机制,但在移植中长链非编码 (lncRNA) 调节基因表达、调节先天和适应性免疫应答的作用尚不清楚<sup>[2]</sup>。本文就 lncRNA 在移植期间免疫耐受的研究发展做简要综述。

## 1 lncRNA 简介

在过去几十年中,研究普遍集中于蛋白质编码基因。然而 DNA 组件百科全书的近期研究表明哺乳动物广泛存在的基因组被转录产生各种编码和非编码 RNA (ncRNA) 都有其存在价值<sup>[3]</sup>。非编码转录在过去的一段时间里一直被认为是垃圾 DNA 的转录和转录噪音<sup>[3,4]</sup>。最近研究表明 ncRNA 也参与维持细胞和组织稳态的生理过程。lncRNA 被定义为长度超过 200 个核苷酸单位非蛋白质编码基因的转录物<sup>[5,6]</sup>。从主观上限制区分了 lncRNA 与小调节 RNA 如 microRNA (miRNA), 短干扰 RNA (siRNA), piwi 相互作用的 RNA (piRNA), 小核仁 RNA (snoRNA) 和其他短 RNA<sup>[4]</sup>。根据与蛋白质编码 mRNA 的接近程度, lncRNA 可以分为以下几种,其中包括有义核酸,反义核糖核酸,内含子核糖核酸,双向 lncRNA 和长基因间的 ncRNA (lincRNA)<sup>[1,7,8]</sup>。过去几年中我们对 miRNA 的生物合成和生物活性已经有了很好的了解,而对 lncRNAs 的理解相对有限,但事实上 lncRNA 已经广泛参与了生物学功能。新近研究发现, lncRNA 参与调节心肌细胞、干细胞、上皮细胞、红细胞和脂肪细胞的发育,也调节了几种不同免疫细胞的发育和分化。

## 2 lncRNA 与免疫

免疫系统具有免疫监视、防御、调控的作用。这个系统由免疫器官、免疫细胞以及免疫活性物质组成。免疫系统有两个重叠和相互作用的组分,被称为先天免疫系统(例如吞噬作用,抗微生物肽和补体系统)和适应性免疫系统(例如,抗原特异性应答和免疫记忆)。最近研究表明,除先天免疫之外, lncRNA 还参与适应性免疫应答的调节<sup>[9]</sup>,并证明 lncRNAs 影响 T 和 B 细胞的功能和分化<sup>[10]</sup>,这在移植排斥中起关键作用<sup>[2]</sup>。

### 2.1 lncRNA 对 T 细胞的调节

细胞因子诱导转录因子谱系的激活,参与将初始辅助 T 细胞分化为特殊的效应细胞(包括 Th1, Th2 和 Th17 细胞和调节性 T 细胞 (Tregs))<sup>[11]</sup>。许多研究表明了 T 细胞谱系

中存在很多 lncRNA 转录组,不同的 T 细胞亚群在其发育的不同阶段表达不同特异性的 lncRNA<sup>[12]</sup>。

Th1 细胞为 CD4+T 细胞的亚群,功能为参与调节细胞免疫,辅助细胞毒性 T 细胞分化,调节细胞免疫应答,参与迟发型超敏反应等。研究发现 lincRNA-MAF-4 位于编码 MAF 的基因上游,通过转录因子 MAF 的表观遗传学沉默来控制人类 Th1 细胞的发育,MAF 是初始 CD4 + T 细胞分化为 Th2 和 Th17 细胞的转录因子<sup>[13]</sup>。lincRNA-MAF-4 的表达限于 Th1 细胞,它在幼稚 T 细胞或其他淋巴细胞中不表达。通过体外细胞实验发现 Th1 和 Th2 中 lincRNA-MAF-4 和 MAF 表达呈负相关,表明 lncRNA 在这些辅助 T 细胞的发育中具有调节功能<sup>[14]</sup>。

已证明 lincRNA NeST (最初被鉴定为 Tmevpg1) 调节 Th1 细胞分化<sup>[11]</sup>。NeST 被鉴定为控制小鼠中枢神经系统中 Theiler 病毒持久性的基因。Tmevpg1/NeST 编码在干扰素 (IFN)  $\gamma$  基因中,如 IFN- $\gamma$  在 CD4 + Th1 细胞, CD8 + T 细胞和天然杀伤细胞中表达。NeST 表达依赖于转录因子 T-bet 和 STAT4,两者都控制 Th1 细胞的分化。NeST 结合 WDR5 (含 WD 重复蛋白 5)<sup>[15]</sup>,一种在 IFN- $\gamma$  启动子上沉积 H3K4me3 标记(反映转录活性启动子)的组蛋白甲基转移酶,以启动 CD8 + T 细胞转录。NeST 被认为是增强子 RNA,因为它非常接近 IFN- $\gamma$  基因,并且其在顺式中具有促进 IFN- $\gamma$  表达的能力<sup>[16]</sup>。然而,单独的 NeST 表达不足以驱动 IFN- $\gamma$  表达,需要 Th1 特异性转录因子 T-bet 共同发挥作用<sup>[15,17]</sup>。在确定宿主对感染性疾病易感性方面 NeST 的关键作用揭示了 lncRNA 基因在免疫系统的重要性。

Th2 辅助细胞主要为对抗细胞外多细胞寄生虫的免疫反应。lincR-Ccr2-5AS 在紧邻 Ccr2 基因的转录起始位点上游的反义方向转录,并在 Th2 辅助细胞中选择性表达。敲除这种 lncRNA 不影响体外 Th2 细胞的发育,但导致趋化因子基因 Ccr1, Ccr2, Ccr3 和 Ccr5 的表达受损,位于同一基因组位点其含有 lincR-Ccr2-5 AS<sup>[11,18]</sup>。说明 lncRNA 在引导淋巴细胞发育和分化中起重要作用。

### 2.2 lncRNA 对 B 细胞的调节

B 细胞通过分泌高度特异性抗体介导病原体持久的适应性免疫。miRNA (例如 miR-150) 介导 B 细胞发育和功能的关键作用,然而对 B 细胞中 lncRNAs 的了解仍处于起步阶段<sup>[19]</sup>。与 T 细胞的研究相似,几个转录组分析研究已经探索了小鼠和人类 B 细胞中 lncRNA 的表达谱。对 B 细胞发育至关重要的转录因子 PAX5 是小鼠 pro-B 细胞和成熟 B 细胞中 lncRNA 表达的重要驱动因素。数百个 lncRNA 在 B 细胞发育的不同阶段表达,进一步突出了 lncRNA 表达的细胞类型特异性。在 B 细胞中具有已知功能的一种 lncRNA 是调节 B 细胞淋巴瘤中的 FAS 受体 (CD95; TNFRSF6) 信号传导

的反义 lncRNA FAS-AS1<sup>[20]</sup>。FAS 受体通过可溶性 FAS (sFAS) 配体的参与导致细胞凋亡。lncRNA 转录也与 B 细胞的发育和活化状态有关<sup>[21]</sup>。通过称为 V(D)J 复合的方法, B 细胞在骨髓发育期间获得免疫球蛋白受体。在外周淋巴器官中, 炎症或感染期间 B 细胞的活化通过酶 AID (活化诱导的脱氨酶) 介导控制两个关键过程, 即体细胞超突变和免疫球蛋白类别转换<sup>[22]</sup>。这些过程对于产生 B 细胞高度特异性抗体来调节适应性体液免疫至关重要, 而 lncRNA 在这些调节中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。

### 3 免疫耐受与心脏移植

心脏移植已成为心脏衰竭的终末期患者标准治疗方法<sup>[23]</sup>。已知众多危险因素影响移植存活, 例如受体的年龄, 种族和人白细胞抗原错配, 而主要问题是移植器官的急性排斥反应<sup>[24]</sup>。受体的免疫系统将移植的组织识别为外来和潜在的危险物质, 并做出攻击反应最终破坏移植物的大部分免疫系统, 缺乏对移植组织的耐受性会导致有限的移植存活率。在没有免疫抑制的情况下, 同种异体移植物的 T 细胞依赖型急性排斥反应<sup>[25]</sup>, 总是导致二次供体匹配移植物的异位感染和加速排斥<sup>[23]</sup>。尽管移植耐受性可以在一小部分动物和人类中被诱导, 并且能够长期接受同种异体移植, 而无需免疫抑制剂治疗, 然而移植排斥仍可以在受体获得移植耐受状态很长时间之后发生。这种免疫排斥是器官移植患者的主要障碍。目前的治疗方案依赖于慢性免疫抑制, 特别是针对 T 细胞的免疫抑制疗法须终身治疗。随着免疫抑制剂治疗的发展, 移植物的长期存活率有所改善, 急性排斥反应的发生率已降低<sup>[25,26]</sup>, 但急性和慢性排斥仍然是同种异体移植中危及生命的原因。长期应用免疫抑制剂预防排斥反应, 受体的生活质量受到与免疫抑制相关并发症的损害, 如高血压, 糖尿病, 机会性感染和癌症等, 以及由于缺乏确定的免疫耐受性而导致移植长期存活有限, 最终 20% 以上的移植患者在移植后 5 年内死亡<sup>[27]</sup>。近期我们了解到一部分接受常规免疫抑制治疗的肝移植和肾移植受者, 随后停止免疫抑制治疗, 达到了手术耐受性: 移植器官维持功能稳定多年, 发生病理学改变的组织较少<sup>[23]</sup>, 这种特异性移植耐受性 (其中同种异体反应性 T 细胞特异性地丧失能力, 同时保留其余的免疫应答), 长期以来是临床移植追求的目标。

### 4 lncRNA 在心脏移植排斥中的差异表达

由于移植排斥主要由 T 细胞应答介导, 因此在移植排斥反应中, lncRNA 可能参与 T 细胞反应有关的基因调控。使用基因富集分析 (GSEA) 验证 lncRNA 在移植排斥过程中是否以某种方式调节 T 细胞反应, 特别是 Th1 细胞。选择 8~10 周龄的雌性小鼠, 建立小鼠心脏移植急性排斥反应模型, 分为 3 个实验组和 3 个对照组, 从 3 个同种异体和 3 个同基因的移植植物和 GIL 中分离总 RNA, 在同种异体心脏移植植物和种植物浸润淋巴细胞 (GIL) 中, 195 个 lncRNA

(130 个上调, 65 个下调) 在同种异体心脏移植植物和 GIL 中显示差异表达谱 (倍数变化  $\geq 2.0$  或  $\leq 0.5$ , 伪发现率 (FDR)  $< 0.001$ ), 这表明这些 lncRNA 在同种异体移植排斥中基本上起着重要的作用。在移植急性排斥反应小鼠心脏移植模型中建立了差异表达的 lncRNA 和 mRNA 的表达谱, 与微阵列结果一致, 通过定量聚合酶链反应 (qPCR) 证实并验证了 7 种 lncRNA 的表达。lncRNA-A930015D03Rik 和 mouselncRNA1055 在同种异体心脏移植和移植浸润淋巴细胞中高度表达。与同基因组相比, 同种异体组中 Th1 增强基因如 IL-12R $\beta$ 1, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  R2 上调<sup>[28]</sup>, 确定了 IL-12R $\beta$ 1 的表达与移植浸润淋巴细胞中的 lncRNA-A930015D03Rik 和 mouselncRNA1055 密切相关。分析显示 lncRNA-A930015D03Rik 和 mouselncRNA1055 与移植排斥反应中 Th1 细胞相关联, 通过敲除 lncRNA-A930015D03Rik 和敲低 mouselncRNA1055 表达, 抑制 lncRNA-A930015D03Rik 和 mouselncRNA1055, 基本上抑制了 Th1 细胞中 IL-12R $\beta$ 1 和 IFN- $\gamma$  诱导的表达。研究不仅表明 lncRNA-A930015D03Rik 和 mouselncRNA1055 不仅参与调节移植排斥反应期间的 Th1 细胞反应, 而且将其视为识别亚临床移植排斥的新型生物标志物<sup>[2]</sup>。

简而言之, lncRNA 通过调节免疫细胞 (T 细胞, B 细胞, 巨噬细胞和自然杀伤细胞) 的激活, 分化和差异性表达, 从而在各种器官的免疫中起更重要的生物功能。而移植排斥是影响移植存活的主要限制, 诱导移植物的可持续免疫耐受是目前移植长期存活的主要目标之一。需要进一步确定是否差异表达特定的 lncRNA 可以作为移植排斥的生物标志物, 这些 lncRNA 是否可能成为移植物状态的新型生物标志物和诱导免疫耐受, 改善移植物结果的新的治疗靶点。

### 参考文献:

- [1] Liu C, Bai B, Skogerboe G, et al. NONCODE: an integrated knowledge database of non-coding RNAs [J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33: D112-D115.
- [2] Gu G, Huang Y, Wu C, et al. Differential Expression of Long Noncoding RNAs During Cardiac Allograft Rejection [J]. Transplantation, 2017, 101 (1): 83-91.
- [3] Meier-Kriesche HU, Ojo AO, Hanson JA, et al. Increased impact of acute rejection on chronic allograft failure in recent era [J]. Transplantation, 2000, 70 (7): 1098-1100.
- [4] Wu GC, Pan HF, Leng RX, et al. Emerging role of long noncoding RNAs in autoimmune diseases [J]. Autoimmun Rev, 2015, 14 (9): 798-805.
- [5] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions [J]. Nat Rev Genet, 2009, 10 (3): 155-159.
- [6] Scheuermann JC, Boyer LA. Getting to the heart of the matter: long non-coding RNAs in cardiac development and disease [J]. EMBO J, 2013, 32 (13): 1805-1816.
- [7] 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.
- [8] Sun M, Kraus WL. From Discovery to Function: The Expanding Roles of Long Non-Coding RNAs in Physiology and Disease [J]. Endocr Rev, 2015, er00009999.
  - [9] Rosenzweig SD, Holland SM. Defects in the interferon-gamma and interleukin-12 pathways [J]. Immunol Rev, 2005, 203: 38—47.
  - [10] Casero D, Sandoval S, Seet CS, et al. Long non-coding RNA profiling of human lymphoid progenitor cells reveals transcriptional divergence of B cell and T cell lineages [J]. Nat Immunol, 2015, 16 (12): 1282—1291.
  - [11] Spurlock CF 3rd, Tossberg JT, Guo Y, et al. Expression and functions of long noncoding RNAs during human T helper cell differentiation [J]. Nat Commun, 2015, 6: 6932.
  - [12] Pagani M, Rossetti G, Panzeri I, et al. Role of micro RNAs and long-non-coding RNAs in CD4 (+) T-cell differentiation [J]. Immunol Rev, 2013, 253 (1): 82—96.
  - [13] Ho IC, Lo D, Glimcher LH. c-maf promotes T helper cell type 2 (Th2) and attenuates Th1 differentiation by both interleukin 4-dependent and -independent mechanisms [J]. J Exp Med, 1998, 188 (10): 1859—1866.
  - [14] Atianand MK, Caffrey DR, Fitzgerald KA. Immunobiology of long noncoding RNAs [J]. Annu Rev Immunol, 2017, 35: 177—198.
  - [15] Gomez JA, Wapinski OL, Yang YW, et al. The NeST long ncRNA controls microbial susceptibility and epigenetic activation of the interferon- $\gamma$  locus [J]. Cell, 2013, 152 (4): 743—754.
  - [16] Collier SP, Henderson MA, Tossberg JT, et al. Regulation of the Th1 genomic locus from Ifng through Tmevpg1 by T-bet [J]. J Immunol, 2014, 193 (8): 3959—3965.
  - [17] Collier SP, Collins PL, Williams CL, et al. Cutting edge: influence of Tmevpg1, a long intergenic noncoding RNA, on the expression of Ifng by Th1 cells [J]. J Immunol, 2012, 189 (5): 2084—2088.
  - [18] Hu G, Tang Q, Sharma S, et al. Expression and regulation of intergenic long noncoding RNAs during T cell development and differentiation [J]. Nat Immunol, 2013, 14 (11): 1190—1198.
  - [19] Sehgal L, Mathur R, Braun FK, et al. FAS-antisense 1 lncRNA and production of soluble versus membrane Fas in B-cell lymphoma [J]. Leukemia, 2014, 28 (12): 2376—2378.
  - [20] Verma-Gaur J, Torkamani A, Schaffer L, et al. Noncoding transcription within the Igh distal V (H) region at PAIR elements affects the 3D structure of the Igh locus in pro-B cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109 (42): 17004—17009.
  - [21] Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, et al. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme [J]. J Immunol, 2018, 201 (9): 2530—2540.
  - [22] Arciero JC, Maturo A, Arun A, et al. Combining Theoretical and Experimental Techniques to Study Murine Heart Transplant Rejection [J]. Front Immunol, 2016, 7: 448.
  - [23] Sigdel KR, Cheng A, Wang Y, et al. The Emerging Functions of Long Noncoding RNA in Immune Cells: Autoimmune Diseases [J]. J Immunol Res, 2015, 2015: 848790.
  - [24] Lorenzen JM, Schauerte C, Kölling M, et al. Long Noncoding RNAs in Urine Are Detectable and May Enable Early Detection of Acute T Cell-Mediated Rejection of Renal Allografts [J]. Clin Chem, 2015, 61 (12): 1505—1514.
  - [25] Thum T, Condorelli G. Long noncoding RNAs and microRNAs in cardiovascular pathophysiology [J]. Circ Res, 2015, 116 (4): 751—762.
  - [26] Chen W, Peng W, Huang J, et al. Microarray analysis of long non-coding RNA expression in human acute rejection biopsy samples following renal transplantation [J]. Mol Med Rep, 2014, 10 (4): 2210—2216.
  - [27] Miller ML, Daniels MD, Wang T, et al. Spontaneous restoration of transplantation tolerance after acute rejection [J]. Nat Commun, 2015, 6: 7566.
  - [28] van de Vosse E, Haverkamp MH, Ramirez-Alejo N, et al. IL-12R $\beta$ 1 deficiency: mutation update and description of the IL12RB1 variation database [J]. Hum Mutat, 2013, 34 (10): 1329—1339.

(收稿日期: 2017—11—24)