

18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging-assisted management of patients with severe left ventricular dysfunction secondary to coronary disease[J]. *Circ Cardiovasc Imaging* ,2016 ,9( 9) . pii: e004331.

[22] Frye RL , August P , Brooks MM , et al. A randomized trial of therapies for type 2 diabetes and coronary artery disease [J]. *N Engl J Med* , 2009 ,360( 24) : 2503-2515.

[23] Zellweger MJ , Maraun M , Osterhues HH , et al. Progression to overt or silent CAD in asymptomatic patients with diabetes mellitus at high coronary risk: main findings of the prospective multicenter BARDOT trial with a pilot randomized treatment substudy [J]. *JACC Cardiovasc Imaging* ,2014 ,7( 10) : 1001-1010.

[24] O' Meara E , Mielniczuk LM , Wells GA , et al. Alternative Imaging Modalities in Ischemic Heart Failure ( AIMI-HF) IMAGE HF Project I-A: study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Trials* ,2013 ,14: 218.

[25] Hochman JS , Lamas GA , Buller CE , et al. Coronary intervention for persistent occlusion after myocardial infarction [J]. *N Engl J Med* ,2006 ,355( 23) : 2395-2407.

[26] Baks T , van Geuns RJ , Duncker DJ , et al. Prediction of left ventricular function after drug-eluting stent implantation for chronic total coronary occlusions [J]. *J Am Coll Cardiol* ,2006 ,47( 4) : 721-725.

[27] Elias J , van Dongen IM , Hoebers LP , et al. Improved recovery of regional left ventricular function after PCI of chronic total occlusion in STEMI patients: a cardiovascular magnetic resonance study of the randomized controlled EXPLORE trial [J]. *J Cardiovasc Magn Reson* ,2017 ,19( 1) : 53.

[28] Bucciarelli-Ducci C , Auger D , di Mario C , et al. CMR guidance for recanalization of coronary chronic total occlusion [J]. *JACC Cardiovasc Imaging* ,2016 ,9( 5) : 547-556.

收稿日期: 2018-11-18

## LncRNAs 与心脏移植免疫研究进展

孟颖琦<sup>1</sup> 张烁<sup>2</sup>

( 1. 哈尔滨医科大学研究生院 黑龙江 哈尔滨 150000; 2. 哈尔滨医科大学附属第二医院心内科 黑龙江 哈尔滨 150000)

**【摘要】** 心脏移植是心脏疾病终末阶段最有效的治疗方法 , 心脏移植后能否长期存活依然是一个挑战 , 移植排斥是影响移植存活的主要障碍 , 早期发现亚临床排斥可显著提高移植排斥的诊断并对及时指导调整排斥药物治疗剂量有重要意义。长链非编码 RNAs ( lncRNAs ) 是长度 > 200 个氨基酸的非编码 RNAs , 调节基因表达分化和发育过程。LncRNAs 在心脏移植中存在差异表达并可能参与调节免疫反应和移植结果 , 有可能成为心脏移植状态标志物和改善移植结果的新治疗目标。现就近年来 lncRNAs 在心脏移植中研究进展做简要综述。

**【关键词】** LncRNAs; 心脏移植免疫; 移植排斥; 移植耐受

**【DOI】** 10. 16806/j.cnki.issn. 1004-3934. 2019. 04. 036

## Long Non-coding RNAs and Heart Transplantation Immunity

MENG Yingqi<sup>1</sup> ZHANG Shuo<sup>2</sup>

( 1. Harbin Medical University Graduate School , Harbin 150000 , Heilongjiang , China; 2. Department of Cardiology , The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University , Harbin 150000 , Heilongjiang , China)

**【 Abstract 】** Heart transplantation is the most effective treatment for end-stage heart diseases. Long-term survival of heart transplantation remains a challenge. While transplant rejection is the major restriction in successful long lasting graft survival. Early detection of subclinical rejection can significantly improve the diagnosis of graft rejection , and it has important practical significance in timely guiding the adjustment of rejection drug dosage. LncRNAs , more than 200 nucleotides in length , have significant effects on regulation of gene expression during development and differentiation processes. LncRNAs express differentially in cardiac allograft and may regulate immune

response and graft outcomes ,so lncRNAs can be used as novel biomarkers of cardiac graft status and new therapeutic targets to improve graft outcomes. In this review ,recent advances in lncRNAs in heart transplantation were reviewed.

【Key words】 lncRNAs; Heart transplantation immunity; Transplant rejection; Transplantation tolerance

心脏移植是心脏疾病终末阶段最有效的治疗方法 ,心脏移植后能否长期存活依然是一个挑战 ,移植排斥是影响移植物存活的主要障碍 ,免疫排斥是维持移植物成功存活的主要限制 ,诱导免疫耐受是确保移植物长期存活的主要目标<sup>[1]</sup>。早期发现亚临床排斥可显著提高移植排斥的诊断并对及时指导调整排斥药物治疗剂量有重要意义。组织活检是诊断心脏移植排斥的金标准 ,然而它是高侵入性和危险的手术 ,采样误差和观察者的变化也使得诊断变得复杂化 ,因此亟需非侵袭性、敏感准确的标志物诊断亚临床移植排斥。

### 1 长链非编码 RNAs 的定义分类及功能

人类基因中约 80% 以上是被转录的 ,不到 20% 的基因随后转录为蛋白质 ,这就意味着大部分的 DNA 序列转录为非编码蛋白质的 RNAs。非编码 RNAs 分为小非编码 RNAs 和长链非编码 RNAs ( lncRNAs ) , lncRNAs 是长度 >200 个核苷酸的非编码 RNA ,具有基因表达调节功能但不能编码产生蛋白质的一类 RNA<sup>[2]</sup>。根据 lncRNA 在基因组中的不同位置分为正义 lncRNA、反义 lncRNA、双向 lncRNA、基因间和基因内 lncRNA 五种类型<sup>[3]</sup>。新兴的研究发现 lncRNAs 参与多种细胞进程:如细胞增殖、凋亡、分化 ,作为微小 RNAs 的内源性诱饵来调节基因的表达。lncRNA 类型的多样性及核苷酸的长度决定其功能的多样性 ,目前认为 lncRNA 功能可能包括以下几方面<sup>[4]</sup>: ( 1 ) 在编码蛋白基因的上游启动子区进行转录 ,干扰临近蛋白编码基因的表达; ( 2 ) 与特定蛋白质相结合并调节其活性; ( 3 ) 介导染色质重构和组蛋白修饰进而影响基因表达; ( 4 ) 与编码蛋白基因转录本形成互补双链产生内源性小干扰 RNA 或干扰信使 RNA 剪切进而调控基因表达水平。

### 2 lncRNAs 在免疫炎症中的调控作用

免疫反应主要由 T 细胞诱导 ,已有研究验证了超过 2 000 个 lncRNAs 存在于人类 T 细胞中 ,证实 lncRNAs 调节 T 细胞分化和功能发挥 ,参与固有免疫和获得性免疫应答<sup>[5]</sup>。器官移植后抗原递呈细胞被激活 ,将异体抗原呈递给 T 淋巴细胞启动免疫应答。研究表明 T 细胞谱系中存在很多 lncRNA 转录组 ,不同的 T 细胞亚群在发育的不同阶段有不同特异性的 lncRNA 表达<sup>[6]</sup>。Th1 细胞为 CD4<sup>+</sup>T 细胞的亚群 ,参与调节细胞

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 CD4<sup>+</sup>T 细胞分化为 Th2 和 Th17 细胞的转录因子<sup>[7]</sup>。lncRNA-MAF-4 的表达仅限于 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 lncRNA-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>[8]</sup>。

树突状细胞 ( DC ) 是人体免疫系统内功能最强的抗原提呈细胞 ,快速启动免疫应答 ,Wang 等<sup>[9]</sup>使用基因芯片、定量聚合酶链式反应及深度测序技术在人外周血单核细胞诱导分化 DC 中检测出特异性表达 lncRNA 即 lnc-DC ,在人 DC 分化过程将 lnc-DC 沉默后 ,DC 功能相关基因下调 ,DC 中多种激活 T 淋巴细胞的关键蛋白也下调。在鼠骨髓细胞内沉默 lnc-DC 也影响 DC 分化。也就是说 lnc-DC 缺失会改变 DC 分化趋势 ,影响 DC 功能。lnc-DC 调控 DC 分化分子机制可能为 lnc-DC 阻止磷酸酶 SHP1 与 STAT3 结合 ,增强 DC 中 STAT3 的信号通路 ,促进人 DC 发育、激活 T 淋巴细胞免疫应答的能力。还有研究证明不同 lncRNAs 异常表达与各种自身免疫性疾病的起始、发展和发病机制有关<sup>[10]</sup> ,如类风湿性关节炎患者 T 细胞中 lncRNAs Loc100652951 和 Loc100506036 表达增加可促进炎症反应<sup>[11]</sup> ,染色体 14q32.2 上的印迹 DLK1-MEG3 基因可改变 1 型糖尿病易感性等<sup>[12]</sup>。以上都说明 lncRNA 在天然免疫和获得性免疫中免疫细胞增殖及活化中起重要作用。

### 3 lncRNA 在器官移植中的研究

急性排斥一直是器官移植后成功与否的关键因素 ,因此寻找无创、灵敏、高效的诊断急性排斥方法一直是研究热点和努力的方向 ,Flechner 等<sup>[13]</sup>用基因芯片检测移植肾活检组织和外周血淋巴细胞内 DNA 水平相关性 ,发现在肾移植后不同状态 ,二者 DNA 水平的变化均有明显相关性 ,因此可以用一种无创的监测手段来预测器官移植后的免疫状态。Chen 等<sup>[14]</sup>建立 C57BL/6J 小鼠肝脏缺血再灌注模型 ,沉默其 lncRNA: AK139328 后发现可活化 Akt 信号通路并抑制人核因子- $\kappa$ B ( NF- $\kappa$ B ) 信号通路缓解肝脏缺血再灌注损伤 ,因此 AK139328 可能成为肝脏移植后诊断或治疗的新靶

尿液进行 lncRNA 芯片检测,发现有 4 189 种 lncRNAs 明显差异表达,为验证 lncRNA 在尿液中的可检测性及表达变化,研究者选取变化最明显的 lncRNA 经在肾组织活检分析后进一步筛选出恰当的 lncRNA 在尿液标本中进行分析,筛选出三种转录本 lncRNA 即 L321、L327 和 L328,都具有清晰的扩增及溶解曲线,在对照组中没有找到。在 10 例抗排斥反应治疗成功组的尿液 lncRNA 检测中发现, L328 下降至对照组水平,该研究结果表明 L328 有可能成为诊断肾脏移植后急性排斥的特异性诊断指标,其灵敏度为 49%,特异度为 95%,95% CI 为 78.8%~99.9%。还有研究发现 lncRNA LINC01121 可评估应用免疫抑制剂的心脏移植小鼠肾脏功能<sup>[16]</sup>。lncRNAs 的这些特征说明它可能作为移植状态中新标志物和改善移植结果的新治疗目标,具有广阔的临床应用前景及意义。

#### 4 lncRNA 与心脏移植免疫

##### 4.1 lncRNAs 与心脏移植排斥

急性免疫排斥主要由激活的 T 细胞 TH1、TH17、Treg 细胞介导,lncRNAs 调节 T 细胞分化、增殖和固有免疫。Gu 等<sup>[17]</sup>选取 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,分别选取 5 只同种异体(从 ALB/c 小鼠的心脏移植到 C57B16 小鼠)和同基因间心脏移植小鼠(在 C57B16 小鼠之间移植心脏),获取移植后 5 d 小鼠心脏组织及净化的移植浸润淋巴细胞,基因芯片分析发现有 195 个 lncRNAs(130 个上调,65 个下调)并显示差异表达谱(倍数变化 $\geq 2.0$ 或 $\leq 0.5$ )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。用定量聚合酶链式反应和基因富集分析验证发现其中高表达与可诱导急性排斥的 Treg 细胞相关的 lncRNA-A930015D03Ri 和 lncRNA1055 这两种 lncRNAs 与 IL-12R $\beta$ 1 的表达呈显著正相关,IL-12R $\beta$ 1 对于 IL-12 介导的 TH1 细胞分化至关重要<sup>[18]</sup>。在体外 T 细胞分化实验中,用短发夹 RNA 介导敲除 A930015D03Rik、lncRNA1055 明显抑制 IL-12R $\beta$ 1 和  $\gamma$ 干扰素表达,说明 lncRNAs 调控移植中 TH1 应答。实验还发现与免疫相关的基因在异种异体移植排斥中明显高于同种异体移植组,而介导免疫耐受的 IL-10 明显降低,TH1 增强基因 IL-12R $\beta$ 1、IFN- $\gamma$ R2 明显上调。在心脏移植排斥小鼠外周血和血浆中可以检测到 lncRNA-A930015D03Rik、lncRNA1055 明显增加,在人肾脏移植排斥患者中检测到与这两种 lncRNAs 匹配的基因 lncRNA ENST00000628900 和 RP11-309P22.1 高表达,lncRNAs 可作为早期亚临床移

##### 4.2 lncRNAs 与心脏移植免疫耐受

移植患者长期应用免疫抑制剂预防排斥反应,而免疫抑制相关并发症的损害如糖尿病、机会性感染和癌症等严重影响患者生存质量,最终 20% 以上的移植患者在移植后 5 年内死亡<sup>[19]</sup>。近期研究发现一部分常规免疫抑制治疗的肝移植和肾移植受者,一段时间后停止免疫抑制治疗,也能达到耐受性,移植器官功能稳定多年,较少组织发生病理学改变<sup>[20]</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。DC 是强有力的抗原提呈细胞,参与免疫反应,对各种形式刺激应答时分泌细胞因子 IL-10 调节免疫耐受,耐受型 DC 改变 T 细胞活性、产生 Tregs 诱导免疫耐受,在移植免疫中扮演重要角色<sup>[21]</sup>。Wu 等<sup>[22]</sup>研究发现 lncRNA MALAT1 沉默 miR-155 提高树突细胞-细胞间黏附分子-3 结合非整合蛋白(DC-SIGN)表达,进而诱导耐受型 DC 和 Tregs。通过给予同种异体心脏移植小鼠抗 CD-40L 的单克隆抗体诱导免疫耐受,基因芯片分析耐受型移植心脏和移植浸润淋巴细胞中富含并上调表达 lncRNA MALAT1, FISH 分析发现 MALAT1 定位于 CD11+ 细胞内,表明该 lncRNA 可能作用于 DC 参与免疫耐受调节<sup>[15]</sup>。高表达 MALAT1 的 DC 中促炎症因子白介素(IL)-6、IL-12 水平减低,抗炎因子 IL-10 显著增加,因此 MALAT1 高表达促使 DC 转变为有低刺激信号、高分泌 IL-10 的耐受型。DC-SIGN 是存在于 DC 细胞质和细胞核的免疫调节受体,可诱导移植后免疫耐受<sup>[23]</sup>,直接作用于 PU.1,间接作用于 miR-155<sup>[24]</sup>,敲除 DC-SIGN 明显阻断 MALAT1 诱导低共刺激信号和 IL-10 蛋白分泌,变为免疫型 DC。StarBase 数据库分析发现 MALAT1 序列有 3 个位点连接 miR-155,敲除 MALAT1 的 DC 中 miR-155 上调,DC-SIGN 下调,MALAT1 可能沉默 miR155 提高 DC-SIGN 表达发挥免疫耐受。lncRNA MALAT1 可诱导移植后免疫耐受很可能成为心脏移植后治疗靶点,具有重要的临床意义。

##### 5 小结与展望

综上所述,lncRNAs 在心脏移植中通过各种机制诱导免疫排斥和耐受,关于器官移植,只有少数几项研究调查了 lncRNAs 和移植免疫。lncRNAs 在移植免疫的作用机制也不是很清楚,目前该领域尚处于起步阶段,仍面临很多挑战,并且部分结果仅依赖于体外研究,在人体内 lncRNAs 是否能发挥同样的功能还

测 lncRNAs 的血浆水平来辅助判断移植状态,甚至可通过基因靶向治疗策略诱导移植免疫耐受,改善心脏移植患者预后。

## 参考文献

- [1] Ikels C. The anthropology of organ transplantation [J]. *Annu Rev Anthropol* 2013 42 (1): 89-102.
- [2] Okazaki Y, Furuno M, Kasukawa T, et al. Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60770 full-length cDNAs [J]. *Nature* 2002, 420( 6915): 563-573.
- [3] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs [J]. *Cell* 2009 136( 4): 629-641.
- [4] Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs functional surprises from the RNA world [J]. *Genes Dev* 2009 23( 13): 1494-1504.
- [5] Spurlock CF, 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.
- [6] Pagani M, Rossetti G, Panzeri I, et al. Role of microRNAs and long noncoding RNAs in CD4 (+) T-cell differentiation [J]. *Immunol Rev* 2013 253( 1): 82-96.
- [7] Ho IC, Lo D, Glimcher LH. C-maf promotes T helper cell type 2 (Th2) and attenuates Th1 differentiation by both interleukin4-dependent and -independent mechanisms [J]. *J Exp Med* 1998 188( 10): 1859-1866.
- [8] Atianand MK, Caffrey DR, Fitzgerald KA. Immunobiology of long noncoding RNAs [J]. *Annu Rev Immunol* 2017 35( 1): 77-98.
- [9] Wang P, Xue Y, Han Y, et al. The STAT3-binding long noncoding RNA lnc-DC controls human dendritic cell differentiation [J]. *Science* 2014 344( 6181): 310-313.
- [10] 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.
- [11] Lu MC, Yu HC, Yu CL, et al. Increased expression of long noncoding RNAs LOC100652951 and LOC100506036 in T cells from patients with rheumatoid arthritis facilitates the inflammatory responses [J]. *Immunol Res* 2016 64( 2): 576-583.
- [12] Wallace C, Smyth DJ, Maisuria-Arner M, et al. The imprinted DLK1-MEG3 gene region on chromosome 14q32.2 alters susceptibility to type 1 diabetes [J]. *Nat*

*Genet* 2010 42( 1): 68-71.

- [13] Flechner SM, Kurian SM, Head SR, et al. Kidney transplant rejection and tissue injury by gene profiling of biopsies and peripheral blood lymphocytes [J]. *Am J Transplant* 2004 4( 9): 1475-1489.
- [14] Chen Z, Jia S, Li D, et al. Silencing of long noncoding RNA AK139328 attenuates ischemia/reperfusion injury in mouse livers [J]. *PLoS One* 2013 8( 11): e80817.
- [15] Lorenzen JM, Schaurte C, Kolling 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.
- [16] Asleh R, Snipelisky D, Hathcock M, et al. Genome wide association study reveals novel genetic loci associated with change in renal function in heart transplant recipients [J]. *Clin Transplant* 2018 32( 10): e13395.
- [17] Gu G, Huang Y, Wu C, et al. Differential expression of long noncoding RNAs during cardiac allograft rejection [J]. *Transplant* 2017 101( 1): 83-91.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] Miller ML, Daniels MD, Wang T, et al. Spontaneous restoration of transplantation tolerance after acute rejection [J]. *Nat Commun* 2015 6: 7566.
- [21] Iberg CA, Jones A, Hawiger D. Dendritic cells as inducers of peripheral tolerance [J]. *Trends Immunol* 2017 38( 11): 793-804.
- [22] Wu J, Zhang H, Zheng Y, et al. The long noncoding RNA MALAT1 induces tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells via miR155/dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing nonintegrin/IL10 axis [J]. *Front Immunol* 2018 9: 1847.
- [23] Conde P, Rodriguez M, van der Touw W, et al. DC-SIGN(+) macrophages control the induction of transplantation tolerance [J]. *Immunity* 2015 42( 6): 1143-1158.
- [24] Martinez-Nunez RT, Louafi F, Friedmann PS, et al. MicroRNA-155 modulates the pathogen binding ability of dendritic cells (DCs) by down-regulation of DC-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing non-integrin (DC-SIGN) [J]. *J Biol Chem* 2009 284( 24): 16334-16342.

收稿日期: 2018-10-27

## 投稿须知

本刊已开通网上投稿, 官方网站地址: <http://xxgbxzz.paperopen.com>

进入“作者投稿”在“作者投稿管理平台”中投稿。

近期刊发现一些网站冒用《心血管病学进展》名义征稿, 向《心血管病学进展》杂志投稿, 一定要登录《心血管病学进展》杂志的官方网站。

若有任何问题咨询, 咨询电话: 028-61318656, 18190934621 或 E-mail: [xxgbxjzcd@aliyun.com](mailto:xxgbxjzcd@aliyun.com)