

本文引文格式: 韦美理, 林栩. LncRNA GAS5 在足细胞损伤中的作用研究[J].
右江民族医学院学报, 2021, 43(4): 546-549.

【综述与讲座】

LncRNA GAS5 在足细胞损伤中的作用研究

韦美理¹, 林栩²

1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院附属医院肾内科, 广西 百色 533000)

摘要: 足细胞损伤是导致肾小球疾病蛋白尿持续发生和慢性肾脏疾病进展的关键危险因素。近年来, LncRNA GAS5 在影响细胞存活或死亡中的功能已引起越来越多的关注, LncRNA GAS5 参与了足细胞的损伤, 学者们一直在不断探讨其参与足细胞损伤的作用机制。在此, 本文概述 LncRNA GAS5 的结构和生物学功能及其参与足细胞损伤的作用机制, 以更加全面有效地认识足细胞损伤发生发展的分子机制, 从而为足细胞损伤与修复提供不可或缺的理论依据。

关键词: LncRNA GAS5; 足细胞损伤; 蛋白尿

中图分类号: R342.2; R692 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2021)04-0546-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2021.04.022

慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)越来越成为危害人类健康不可忽视的疾病, 因此也备受全球卫生相关部门的关注。研究表明, 全球 CKD 的患病率为 8%~16%^[1], 在中国, 成人 CKD 患病率较高, 老年人群尤为显著^[2]。“肾脏疾病·改善全球预后(Kidney Disease·Improving Global Outcomes, KDIGO)”组织 2012 年指南将 CKD 分为 5 期^[3], CKD 一旦进展至 5 期(肾衰竭期)时将面临肾脏替代治疗, 随之而来的各种并发症, 包括疾病本身引起的以及在治疗过程中引起的, 如心脑血管疾病、感染、水电解质及酸碱平衡紊乱等, 是导致终末期 CKD 患者死亡的主要原因。因此防治并发症及延缓 CKD 的进展是目前需攻克的一大难题^[4]。

肾小球疾病是导致 CKD 的主要原因之一, 无论原发性还是继发性的肾小球疾病, 其共同特点是足细胞损伤继而出现蛋白尿, 最终进展为 CKD 5 期。由此可知, 足细胞与 CKD 的发生、发展密不可分, 充分了解足细胞损伤的相关机制, 从而通过早期防治可延缓慢性肾脏病的进展, 甚至可能成为日后治疗 CKD 的关键。

人们越来越认识到, 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 在基本的生物学过程中起着至关重要的调节作用, 因此, 它们的失调可能导致包括肾脏病在内的主要人类疾病。因此, 对 LncRNA 生物学的更多理解可能会为致病机制提供新的见解, 从而

为诊断和治疗提供新的机会。在这方面特别受关注的是长链非编码 RNA 生长阻滞特异性转录物 5 (LncRNA growth arrest-specific transcript 5, LncRNA GAS5), 它参与多种疾病的发病机制, 其表达水平与临床病理特征和患者预后相关。LncRNA GAS5 的生物学功能研究提示, LncRNA GAS5 既抑制多种类型细胞增殖又促进其凋亡, 而且这些细胞作用机制可能共同构成其抑制肿瘤作用的基础^[5]。近年来, 对 LncRNA GAS5 分子作用机制的理解取得了进展, 如 LncRNA GAS5 能通过调控免疫细胞的增殖和活性来参与免疫应答, 从而影响自身免疫性疾病的发生发展^[6]。总而言之, LncRNA GAS5 研究的结果具有改善疾病的诊断和治疗以及最终改善患者预后的潜力。为了说明这一观点, 本文着重介绍了 LncRNA GAS5 的结构及生物学功能、其参与足细胞损伤的机制以及最终导致 CKD 的研究进展。

1 LncRNA GAS5 的基因结构

LncRNA 是一类长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA, 转录产物在剪接或不剪接后变为成熟的 LncRNA, 带有或不带有 poly(A)尾巴。LncRNA 位于细胞核或细胞质中, 具有复杂且可变的的功能。LncRNA GAS5 是位于 1 号染色体长臂 2 区 5 带的一类 LncRNA, 除了能编码 LncRNA 外, 还编码 snoRNAs、microRNAs 和 piRNAs。LncRNA GAS5 包含 12 个

基金项目: 国家自然科学基金项目(81860131); 广西自然科学基金项目(2019 GXNSFDA245004, 2017 GXNSFAA198288)

第一作者简介: 韦美理(1995-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 肾小球疾病足细胞损伤机制, E-mail: 2539083101@qq.com

通讯作者简介: 林栩(1963-), 男, 硕士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 肾小球疾病基础与临床, E-mail: linyfyf@163.com

外显子和 11 个内含子,外显子仅包含一个短的开放阅读框,无编码蛋白的功能。然而,由于第 7 外显子中存在 5'-剪接供体位点,这些外显子被剪接后可以产生两个成熟的 LncRNA,即 GAS5a 和 GAS5b,其中 GAS5b 被认为是其主要转录物^[1]。LncRNA GAS5 的首个外显子中存在 5'-末端寡嘧啶(5'-TOP)序列,LncRNA GAS5 的生物学特征是由 5'-末端的寡聚核糖核苷酸序列决定的^[7]。5' TOP 转录子能够被免疫抑制剂抑制自身的翻译,5'-TOP mRNA 的另一个特征是其受到生长依赖转译的控制。此外,LncRNA GAS5 的内含子能够编码 10 个人类或 9 个老鼠 C/D 框 snoRNAs,这些 RNA 参与 rRNA 的 2'-O-甲基化;U44 snoRNA 指导 18S rRNA 的修饰,剩余的 snoRNAs 直接修饰 28S rRNA。此外,在这些 snoRNAs 中,U44、U74 和 U78 可能是 microRNA 的前体^[8]。既往研究也发现 GAS5 的 mRNA 水平在细胞生长抑制中有转录后积聚的现象^[7]。

2 LncRNA GAS5 参与生物学行为的调控机制

研究证明,LncRNA 的表达不仅具有细胞特异性和组织特异性,而且在真核生物发育过程的特定阶段表达,即发育阶段特异性^[9]。LncRNA 是许多生物学行为发生过程中的重要调控因子,例如蛋白修饰、转录和逆转录调控 DNA 甲基化、细胞周期^[10]。研究证明,LncRNA 与许多疾病的发生和发展有关,包括肾脏疾病^[11-14]。LncRNA 可通过调节糖尿病性肾病中波形蛋白和肾素的表达来促进足细胞的上皮-间充质-过渡(EMT)过程,此外,与足细胞代谢变化的密切关系使 LncRNA 成为肾脏疾病发病机制中的一个重要环节^[15]。LncRNA 在许多肾脏疾病的发生中起重要的调节作用,包括糖尿病性肾病、肾脏炎症和纤维化、肾细胞癌、肾损伤、肾移植排斥反应等^[16]。LncRNA GAS5 作为 LncRNA 中的一员,在多种急、慢性疾病的发生和发展过程中具有重要调控作用。LncRNA GAS5 主要通过以下三种形式参与细胞生物学行为的调控。

2.1 激活或抑制基因转录 LncRNA GAS5 作为诱饵,与具有转录功能的调节蛋白结合并通过“滴定”的方式调节相关基因转录的激活或抑制。LncRNA GAS5 于 1988 年由 Schneider C 等在小鼠纤维母细胞 NIH 3T3 中首次分离出来,通过血清饥饿或雷帕霉素治疗后 NIH 3T3 细胞中 LncRNA GAS5 的表达呈上升趋势,且 LncRNA GAS5 还能引起 T 淋巴细胞的生长阻滞^[17]。Tani H 等^[18]在人肾上皮细胞 HEK293T 中研究证实 LncRNA GAS5 可通过竞争性结合糖皮质激素受体而影响糖皮质激素诱导的蛋白激酶及其下游信号分子 cIAP、SGK1 的表达,并参与细胞增殖、离子

通道以及细胞生长的调控。其还可以调节其他受体的转录活性,如雄激素、孕激素等^[19-20]。有研究通过敲低人原代淋巴细胞和人 T 淋巴细胞系 CEM-C7 和 MOLT-4 中 LncRNA GAS5 的表达,再让这些细胞经过雷帕霉素处理后发现雷帕霉素的抑制效应被减轻 50% 以上以及雷帕霉素引起的细胞周期阻滞效应被消除,过表达 LncRNA GAS5 可诱导细胞凋亡增加和细胞周期受阻^[19]。此外,有研究经过敲低细胞 LncRNA GAS5 的表达后再使用 mTOR 其它广谱抑制剂处理,发现 LncRNA GAS5 保护效应减低^[9]。

2.2 调控靶基因的表达 LncRNA GAS5 可作为 miRNA 或剪切因子的诱饵,通过靶向结合 miRNA 而负性调控 miRNA 下游靶基因的表达。Gu J 等^[21]通过计算机软件分析出 LncRNA GAS5 存在 miR-23a 的靶向结合位点,通过 RIP 及双荧光素酶报告基因实验验证了 LncRNA GAS5 与 miR-23a 之间的相互关系,在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中发现 LncRNA GAS5 可通过海绵样吸附作用降低胞内 miR-23a 水平,促使 ATG3 表达及自噬活化并抑制肿瘤细胞生长。Wang YF 等^[22]通过 TargetScan 发现 LncRNA GAS5 具有一个 miR-155 的结合位点,他们使用 miR-155 模拟物的外源转染后,发现髓核细胞中的 LncRNA GAS5 表达水平显著降低,他们还发现 LncRNA GAS5 的过表达通过下调 Bcl-2 和上调 caspase-3 导致人类椎间盘原发性髓核细胞凋亡增加。

2.3 参与基因表达的调控 Kim H 等^[23]研究发现 LncRNA GAS5 和 c-Myc RNA 直接结合而抑制 c-Myc 进入多聚核糖体,从而可负性调节 eIF4E 下游靶基因 c-Myc 的翻译。LncRNA GAS5 在乳腺癌中的低表达可导致 snoRNAs U50 的低表达,这提示 LncRNA GAS5 可能通过 snoRNAs U50 发挥诱导细胞凋亡和阻滞细胞增殖等抑制作用。最新研究发现由 GAS5 编码的 snoRNA SNORD44,在头颈鳞状细胞癌中低表达,且表达水平与患者预后呈负相关^[24]。LncRNA GAS5 可通过 mTOR 通路调节细胞的生长,具有调节细胞周期和细胞凋亡的功能,LncRNA GAS5 还可能通过调控 snoRNA 来发挥其生物学功能^[25]。此外,LncRNA GAS5 已被证明在基质干细胞分化中发挥重要的调节作用^[26]。Fang Y 等^[27]研究发现 LncRNA GAS5 可通过抑制 PTEN 表达并导致败血症诱导的足细胞损伤。

3 LncRNA GAS5 与足细胞损伤

3.1 LncRNA GAS5 通过 PTEN 参与的足细胞损伤 人第 10 号染色体上缺失的磷酸酶及张力蛋白同源物(PTEN)基因是 PI3K/AKT 信号通路的负调节剂。PI3K/AKT 信号通路在细胞存活、增殖及凋亡中起着

重要作用^[28]。PI3K/AKT信号通路在肾小球足细胞自噬作用中充当着特别的角色,调控着足细胞的生长、分化及凋亡。足细胞裂孔蛋白CD2AP和肾病蛋白(nephrin)复合体可以与PI3K-P85亚基结合,参与并激活PI3K/AKT依赖的信号转导途径,调控足细胞的凋亡^[29]。有研究还发现活化的PI3K/AKT通路可通过损伤足细胞而引起蛋白尿的形成^[30]。PTEN在糖尿病性肾病的足细胞损伤中起保护作用,而PTEN缺失则刺激蛋白尿的发生。此外,PTEN缺乏会促进细胞骨架重塑,进而加速糖尿病性肾病的发展^[31]。

有学者研究使用脂多糖(LPS)刺激足细胞后发现,在LPS诱导的足细胞中LncRNA GAS5的表达以时间依赖性方式下降,24 h后LncRNA GAS5的表达水平明显下调^[31]。研究者们还将足细胞中的LncRNA GAS5敲低,发现LncRNA GAS5敲低显著抑制足细胞中肾病蛋白的表达,这表明下调的LncRNA GAS5可能介导了足细胞的损伤^[31]。学者们还发现抑制LncRNA GAS5可以显著增强足细胞的损伤程度,这表明败血性肾损伤中LncRNA GAS5的抑制作用可能会破坏足细胞^[31]。同时,LncRNA GAS5敲低后PTEN被下调,而PI3K/AKT则被激活。PTEN通常被认为是PI3K/AKT信号通路的负调节剂,它通过去磷酸化与PI3K拮抗,在3'-羧基位点形成PIP2,从而对PI3K/AKT途径产生负调控^[28]。研究者通过生物信息学分析预测发现了LncRNA GAS5启动子序列中存在PTEN的结合位点。更重要的是,PTEN的过表达可以逆转GAS5对PI3K/AKT激活的促进作用,进一步表明LncRNA GAS5对PI3K/AKT途径的调节作用取决于PTEN^[28]。总之,LncRNA GAS5通过抑制PTEN表达导致足细胞损伤。

3.2 LncRNA GAS5通过CHOP参与的足细胞损伤

CHOP(C/EBP同源蛋白)是bZIP转录因子C/EBP家族的成员,与转录因子C/EBP1是同源二聚体,CHOP的表达受到多种细胞应激的影响。CHOP与C/EBP二聚化是通过阻止其DNA与基因启动子结合而抑制C/EBP的功能,CHOP能与特定的DNA序列结合并刺激特定基因的转录,CHOP还与其它碱性区域亮氨酸拉链蛋白的非C/EBP亚家族相结合,如激活转录因子3和Jun/Fos,CHOP(C/EBP同源蛋白)是ER应激介导的凋亡通路的组成部分之一。已有研究表明,CHOP在ER应激细胞中通过真核翻译起始因子2(eIF2 α)亚基的去磷酸化促进蛋白质合成,从而诱导死亡^[32]。CHOP的异位过表达诱导成纤维细胞生长停滞,抑制脂肪细胞分化,并诱导体外凋亡。CHOP在正常肾脏的足细胞中表达微弱,但在大多数蛋白尿患者肾脏和大鼠嘌呤霉素肾病中表达上调。营

养缺乏后,CHOP和GAS5的表达增加^[33]。

超氧阴离子和过氧化氢增加了LncRNA GAS5和CHOP的mRNA和蛋白表达。有报道, LncRNA GAS5可能通过snoRNA调节CHOP的表达^[34];在过表达CHOP的细胞中测定LncRNA GAS5表达,结果提示LncRNA GAS5表达下调,这表明CHOP对LncRNA GAS5表达的负反馈机制^[35]。

4 小结与展望

LncRNA GAS5能够调控细胞增殖、凋亡、细胞周期等生命过程,与急性心肌梗死、脑血管疾病、高血压、糖尿病等多种疾病发生、发展及治疗密切相关,因此我们可推测其有望成为疾病精准靶向治疗的新靶标。尽管LncRNA GAS5在足细胞损伤作用机制的研究中取得了一些进展,但它在CKD的发生机制和诊疗价值尚不清楚,LncRNA GAS5作为细胞生长和凋亡的重要调节因子。目前的研究成果仍然给了我们信心,深入开展对LncRNA GAS5在足细胞损伤的分子机制研究有可能成为CKD精准防治的新靶点。

参考文献:

- [1] Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives[J]. Lancet, 2013, 382(9888): 260-272.
- [2] 王善志, 朱永俊, 唐文庄, 等. 中国成人及老年人群慢性肾脏病患病率 Meta 分析[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(21): 5384-5388.
- [3] 郭玮, 潘柏申. 从K/DOQI 2002到KDIGO 2012慢性肾脏病诊疗指南中实验室检测项目相关应用建议的解读[J]. 检验医学, 2015, 30(7): 663-667.
- [4] 钟莉娟, 刘璠娜, 尹良红. 自噬对慢性肾脏病足细胞损伤的影响[J]. 临床医学工程, 2019, 26(9): 1304-1306.
- [5] 赵静. LncRNA-GAS5调控胶质瘤恶性生物学行为的作用和机制研究[D]. 西安: 西北大学, 2019.
- [6] 陈娟, 李生强, 叶云金, 等. 长链非编码RNA GAS5在绝经后骨质疏松症肾阴虚证的表达及对骨免疫细胞因子的调控作用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(12): 1691-1695.
- [7] 陈沁楠, 王朝霞. 长链非编码RNA GAS5在肿瘤研究中的进展[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(1): 138-140.
- [8] Brameier M, Herwig A, Reinhardt R, et al. Human box C/D snoRNAs with miRNA like functions: expanding the range of regulatory RNAs[J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39(2): 675-686.
- [9] Yunusov D, Anderson L, DaSilva LF, et al. HIPSTR and thousands of lncRNAs are heterogeneously expressed in human embryos, primordial germ cells and stable cell line [J]. Sci Rep, 2016, 7: 44632.
- [10] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. Nat Rev Genet, 2009,

- 10(3):155-159.
- [11] Yan H, Xu RF, Zhang XG, et al. Identifying differentially expressed long non-coding RNAs in PBMCs in response to the infection of multidrug-resistant tuberculosis[J]. *Infect Drug Resist*, 2018, 11:945-959.
- [12] Li Z, Li XY, Jiang C, et al. Long non-coding RNAs in rheumatoid arthritis [J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(1): e12404.
- [13] Wang PQ, Wu YX, Zhong XD, et al. Prognostic significance of overexpressed long non-coding RNA TUG1 in patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(1):82-86.
- [14] Hua JT, Ahmed M, Guo H, et al. Risk SNP-Mediated Promoter-Enhancer Switching Drives Prostate Cancer through lncRNA PCAT19[J]. *Cell*, 2018, 174(3):564-575.
- [15] Ling L, Tan Z, Zhang C, et al. Long noncoding RNA ENSRNOG00000037522 is involved in the podocyte epithelial mesenchymal transition in diabetic rats[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(5):2704-2714.
- [16] Lorenzen JM, Thum T. Long noncoding RNAs in kidney and cardiovascular diseases[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(6):360-373.
- [17] Schneider C, King RM, Philipson L. Genes specifically expressed at growth arrest of mammalian cells[J]. *Cell*, 1988, 54(6):787-793.
- [18] Tani H, Torimura M, Akimitsu N. The RNA degradation pathway regulates the function of GAS5 a non-coding RNA in mammalian cells[J]. *PloS One*, 2013, 8(1): e55684.
- [19] Nagini S. Breast Cancer: Current Molecular Therapeutic Targets and New Players[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2017, 17(2):152-163.
- [20] Yacqub-Usman K, Pickard MR, Williams G. Reciprocal regulation of GAS5 lncRNA levels and mTOR inhibitor action in prostate cancer cells[J]. *Prostate*, 2015, 75(7):693-705.
- [21] Gu J, Wang YP, Wang XD, et al. Effect of the lncRNA GAS5-MiR-23a-ATG3 Axis in Regulating Autophagy in Patients with Breast Cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(1):194-207.
- [22] Wang YF, Song QX, Huang X, et al. Long noncoding RNA GAS5 promotes apoptosis in primary nucleus pulposus cells derived from the human intervertebral disc via Bcl-2 downregulation and caspase-3 upregulation[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(3):2164-2172.
- [23] Kim H, Gillis LC, Jarvis JD, et al. Tyrosine kinase chromosomal translocations mediate distinct and overlapping gene regulation events[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11:528.
- [24] Gee HE, Buffa FM, Camps C, et al. The small-nucleolar RNAs commonly used for microRNA normalisation correlate with tumour pathology and prognosis[J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(7):1168-1177.
- [25] 朱文彦, 李响. 长链非编码 RNA-GAS5 的功能与作用机制[J]. *内江科技*, 2017, 38(12):145-146.
- [26] Li SQ, Zhou J, Wang ZX, et al. Long noncoding RNA GAS5 suppresses triple negative breast cancer progression through inhibition of proliferation and invasion by competitively binding miR-196a-5p[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104:451-457.
- [27] Fang Y, Hu JF, Wang ZH, et al. GAS5 promotes podocyte injury in sepsis by inhibiting PTEN expression[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(23):8423-8430.
- [28] Zhao KX, Li Y, Wang ZQ, et al. Carnosine Protects Mouse Podocytes from High Glucose Induced Apoptosis through PI3K/AKT and Nrf2 Pathways[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019:4348973.
- [29] 王颖超, 刘运华, 张丰丰, 等. 糖肾平对糖尿病肾病大鼠足细胞凋亡及 PI3K/AKT 信号通路的影响[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21(9):1909-1916.
- [30] 于力, 葛林. 肾小球足细胞自噬与 PI3K/Akt 信号通路的研究进展[J]. *临床儿科杂志*, 2015, 33(6):501-503.
- [31] Lin J, Shi YY, Peng H, et al. Loss of PTEN promotes podocyte cytoskeletal rearrangement, aggravating diabetic nephropathy[J]. *J Pathol*, 2015, 236(1):30-40.
- [32] Jang JH, Min KJ, Kim S, et al. RU486 Induces Pro-Apoptotic Endoplasmic Reticulum Stress Through the Induction of CHOP Expression by Enhancing C/EBP δ Expression in Human Renal Carcinoma Caki Cells[J]. *J Cell Biochem*, 2016, 117(2):361-369.
- [33] Fleming JV, Hay SM, Harries DN, et al. Effects of nutrient deprivation and differentiation on the expression of growth-arrest genes (gas and gadd) in F9 embryonal carcinoma cells[J]. *Biochem J*, 1998, 330(Pt 1):573-579.
- [34] He X, Chen XX, Zhang X, et al. An lnc RNA (GAS5)/SnoRNA-derived piRNA induces activation of TRAIL gene by site-specifically recruiting MLL/COMPASS-like complexes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(7):3712-3725.
- [35] 王薇. lncRNA GAS5 吸附 miR-96-5P 加重糖尿病肾病肾小管间质纤维化[D]. 广州:南方医科大学, 2020.

收稿日期:2020-10-17;修回日期:2021-06-23