

## · 综述 ·

## 长链非编码 RNAs 与脂肪组织的关系

王艳立 张林 胡茂清

**【摘要】** 长链非编码 RNAs (lncRNAs) 是长度大于 200 个核苷酸而无蛋白编码能力的功能性 RNA 分子。近年来研究表明, lncRNAs 可通过各种机制调控脂肪组织分化形成、功能结构维持及促进白色脂肪组织 (WAT) 棕色化, 特别是对棕色脂肪组织 (BAT) 的分化成熟发挥重要作用。同时, lncRNAs 与肥胖及代谢性疾病的发生、发展密切联系。

**【关键词】** 长链非编码 RNA; 脂肪组织; 肥胖

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (8167380)

**Relationship between long noncoding RNAs and adipose tissue** Wang Yanli\*, Zhang Lin, Hu Maoqing. \* Clinical Medical College of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

Corresponding author: Hu Maoqing, Email: hmq63@yeah.net

**【Abstract】** Long noncoding RNAs (lncRNAs) are a group of functional RNA molecules longer than 200 nucleotides without protein-coding capacity. Recent studies demonstrated that lncRNAs could regulate adipose tissue differentiation, maintain its function and structure, promote white adipose tissue (WAT) browning by various kinds of mechanisms. Particularly, lncRNAs play important roles in brown adipose tissue (BAT) differentiation and maturation. Besides, lncRNAs are closely associated with the development and progression of obesity and metabolic diseases.

**【Key words】** Long noncoding RNAs; Adipose tissue; Obesity

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (8167380)

长链非编码 RNAs (lncRNAs) 是一大类多样性的 RNA 分子, 广泛存在于哺乳动物、植物、真菌和脊椎动物体内<sup>[1]</sup>。lncRNAs 起初因不具备翻译功能而被认为是“转录噪音”<sup>[2]</sup>。直到 lncRNA Xist 和 H19 被证明参与表观遗传调控, 才使人们初步认识到 lncRNAs 的基因功能。许多 lncRNAs 依赖于其二级或三级结构, 通过不同机制在多种生物学过程和疾病中表达上调或下调, 特异性敲除 lncRNAs 可影响机体的特定功能, 证实 lncRNAs 对机体的重要作用。越来越多的研究发现, lncRNAs 与脂肪组织的分化调控、功能维持紧密相关, 是肥胖及代谢性疾病新的调控靶点。本文对 lncRNAs 与脂肪组织的关系进行综述。

## 1 lncRNAs 的结构与功能

lncRNAs 是长度大于 200 个核苷酸的 RNA 分子, 其转录本因缺乏功能性的开放阅读框而不编码蛋白质<sup>[3]</sup>。lncRNAs 可来源于蛋白编码基因转变、逆转录转座作用等<sup>[4]</sup>。其由 RNA 聚合酶 II 转录后剪接及多聚核苷酸化而成, 转录本序列保守性较低, 一度被认为不具备基因功能<sup>[3]</sup>。lncRNAs 结构复杂多样, 根据其与附近蛋白编码基因的相对位置可分为正义、反义、基因间、双向和增强子相关转录本等。根据其在细胞内的位置又可分为细胞核和细胞质 lncRNAs, 少数二者均有。通过表达 shRNAs (short hairpin RNAs) 能够减少人工培养细胞胞核 lncRNAs, 提示 lncRNAs 可在细胞核与细胞质之间穿梭, 但有待进一步证实<sup>[5]</sup>。

大多数 lncRNAs 位于细胞核内, 发挥充当分子骨架、协助 mRNA 剪接或修饰染色质结构的作用<sup>[6]</sup>。而位于细胞质内的 lncRNAs 有调节翻译、促进或抑制 mRNA 降解和充当 microRNA 前体的功

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2017.02.016

作者单位: 610075 成都中医药大学临床医学院 (王艳立); 610041 成都中医药大学第三附属医院内分泌科, 四川省糖尿病防治中心 (张林, 胡茂清)

通信作者: 胡茂清, Email: hmq63@yeah.net

能<sup>[7]</sup>。LncRNAs功能多样,主要有表观遗传调节、转录调节、转录后调节 3 大主要功能。如HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR),通过反式作用抑制HOXD位点基因转录,在表观遗传水平调控蛋白编码基因<sup>[8]</sup>。Evf2可招募转录因子DLX2至相同增强子位置而诱导邻近蛋白编码基因的表达,作为共因子调节转录<sup>[9]</sup>。Zeb2则可结合HOX位点转录mRNA区的内含子5'剪接位点,致使转录本不能进行有效的翻译及抑制ZEB2蛋白的表达<sup>[10]</sup>。

## 2 LncRNAs 与脂肪细胞

2.1 LncRNAs 与脂肪细胞分化 非编码RNA可调控包括脂肪细胞在内的许多生物学发育过程,一些microRNAs已被证实能正向或反向调控脂肪细胞分化<sup>[11]</sup>。LncRNAs在脂肪细胞分化中亦充当重要角色。

经多聚腺苷酸化选择RNAs大规模平行测序,研究者发现了175个lncRNAs在棕色脂肪组织(BAT)和白色脂肪组织(WAT)分化过程中上调或下调数倍,脂肪分化关键转录因子过氧化物酶体增殖物活化受体 $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )、CCAAT/增强子结合蛋白(C/EBP) $\alpha$ 随之发生同样变化<sup>[12]</sup>。在上调的lncRNAs中,根据上调倍数筛选出了26个lncRNAs,并且发现它们的启动子与PPAR $\gamma$ 或CEBP $\alpha$ 结合<sup>[12]</sup>。通过RNA干扰介导的LOF(loss of function)描绘出了10个功能性的lncRNAs,敲除其基因后严重影响脂肪细胞分化成熟,称之为lnc-RAP-n(Regulated in Adipogenesis)<sup>[12]</sup>。微阵列芯片技术发现,在BAT分化的第0天和第8天分别有520个上调和543个下调的lncRNAs,其中549个在BAT分化的不同阶段持续异常表达,使用实时定量PCR技术进一步证实了以上结果<sup>[13]</sup>。另有研究显示,超过1500个lncRNAs在脂肪组织中表达,在不同脂肪组织中呈现出表达特异性。其中127个与BAT分化紧密相关,大多位于细胞核内,以PPAR $\gamma$ 、C/EBP $\alpha$ 和C/EBP $\beta$ 为靶点,称这些lncRNAs为lnc-BATEs<sup>[14]</sup>。进一步研究发现,其中之一lnc-BATE1,在BAT中的表达比在WAT中多10~20倍,且在BAT分化过程中上调了30倍。基因敲除lnc-BATE1后棕色前体脂肪细胞分化受到抑制而WAT分化基因上调,敲除成熟BAT lnc-BATE1基因后BAT结构功能失调,提示

lnc-BATE1可能是BAT分化成熟和功能特性维持所必需。此外,研究发现lnc-BATE1基因缺失后线粒体的生物合成发生障碍及解耦联蛋白1水平表达下降,在低温下诱导WAT棕色化时发现lnc-BATE1高度表达,提示lnc-BATE1能促进产热作用及WAT棕色化<sup>[14]</sup>。另有转录表达谱发现了21个在BAT分化和WAT棕色化过程中表达丰富lncRNAs,并筛选出了3个高度保守的基因间的lncRNAs(AK080070、3930402G23Rik、AK038898),其中敲除AK038898后BAT分化显著受损,称之为Blnc1(brown fat lncRNA1)<sup>[15]</sup>。进一步研究发现它是BAT分化和米色脂肪细胞获得产热表型所需<sup>[15]</sup>。以上研究均提示,lncRNAs对脂肪细胞分化尤其是对BAT分化发挥重要作用,但大量具体的功能性lncRNAs及其作用机制亟待更深入的研究。

2.2 LncRNAs 调控脂肪组织的机制 LncRNAs可通过影响临近或重叠的编码基因表达而发挥功能<sup>[3]</sup>。使用基因本体论(gene ontology, GO)和途径分析筛选出了3个候选lncRNAs(Gm15051、Tmem189和Cebpd),发现它们可能分别通过与其临近的蛋白编码基因Hoxa1、C/EBP $\beta$ 和C/EBP $\delta$ 相互作用而促进BAT分化<sup>[13]</sup>。研究同样发现,脂肪细胞分化关键转录因子基因表达水平随lncRNAs的敲除而降低,提示lncRNAs可能是通过PPAR $\gamma$ 、C/EBP $\alpha$ 等与其启动子区域结合发挥功能作用<sup>[12]</sup>。LncRNA之一的lnc-RAP-1(Firre),可通过与核基质因子hnRNPU(heterogeneous ribonucleoprotein U)相互作用发挥调控作用,使抑制脂肪形成的编码因子相互聚拢,同时使染色质在细胞核内准确定位,推测hnRNPU-Firre调控通路可能是脂肪形成或其他生物学进程所需<sup>[16]</sup>。LncRNAs已被证实可通过顺式或反式作用机制调控细胞分化。研究发现,BATE1可反式作用调控BAT分化,BATE1与hnRNPU结合形成核苷酸复合体,激活BAT基因程序和抑制WAT基因表达,但如何发挥其作用需更深入的研究<sup>[14]</sup>。在BAT分化过程中Blnc1和EBF2(early B-cell factor 2)均显著表达,Blnc1的调控机制可能是与转录因子EBF2形成核糖核蛋白复合体,刺激促产热基因如解耦联蛋白1的表达,进一步研究显示Blnc1本身是EBF2的靶,因此形成一个调节回路促使脂肪细胞向产热

表型转化<sup>[15]</sup>。另有研究显示, lncRNAs 可与 microRNA 相互作用, 促进脂肪细胞分化, 如基因敲除 microRNA 140 的前体脂肪细胞脂向分化能力大大受损, lncRNA NEAT1 表达亦显著降低, 提示 microRNA 140/lncRNA NEAT1 信号通路可能是脂肪细胞分化所需<sup>[17]</sup>。lncRNAs 可在多种细胞环境中参与对细胞自噬的调控, 在人脐静脉内皮细胞研究中发现, lncRNAs 可诱导雷帕霉素靶蛋白通路激活而抑制细胞自噬, lncRNAs 是否通过细胞自噬途径调控脂肪细胞分化尚需证实。尽管目前对 lncRNAs 调控脂肪组织具体机制的研究结果并不多, 但现有的成果为未来进一步的研究提供了探索依据并指明了方向。

### 3 lncRNAs 与肥胖及代谢性疾病

3.1 lncRNAs 与肥胖 哺乳动物主要有两种类型的脂肪组织: WAT 主要把甘油三酯以能量形式储存, BAT 则燃烧脂质产生热能和消耗能量以抵御寒冷和肥胖, 了解 BAT 分化形成的具体调控机制是抵抗肥胖的关键。在对小鼠不同发育阶段脂肪细胞表达谱的分析发现, 前脂肪细胞较成熟脂肪细胞有上百个差异表达的 lncRNAs, 干扰这些 lncRNAs 后发现, 前脂肪细胞向成熟脂肪细胞分化过程明显受阻, 表现为脂肪的聚集明显降低以及成熟标记物表达水平下降<sup>[18]</sup>。类固醇 RNA 受体激动剂 (SRA) 在小鼠脂肪组织高表达, lncRNAs 与 SRA 结合后致使 ST2 间充质前体细胞过表达, 促进脂肪细胞分化<sup>[19]</sup>。SRA 作为一种特殊的 lncRNAs, 敲除 SRA 的实验鼠较对照组抵抗高脂肪饮食的能力更强, 其脂肪含量下降, 糖耐量改善<sup>[20]</sup>。微阵列芯片和其他先进技术揭示, lncRNAs 在脂肪组织发育分化过程中异常表达, 参与多能间充质干细胞的定向分化和前体脂肪细胞的最终分化, 正向调控脂肪组织, 特别是可促进 BAT 分化和 WAT 棕色化。因而, lncRNAs 有望从基因水平防治肥胖的发生、发展。

3.2 lncRNAs 与其他代谢性疾病 lncRNAs 同时密切参与糖尿病和内分泌肿瘤等其他内分泌系统疾病的发生、发展。研究发现了 1 128 个 lncRNAs 在人胰岛表达, 大多数位于编码胰岛  $\beta$  细胞重要因子附近, 在胰岛  $\beta$  细胞培养基加入葡萄糖后, 部分 lncRNAs 表达上调, 提示 lncRNAs 与胰岛  $\beta$  细胞功能

相关<sup>[21]</sup>。GLIS3 是重要的胰岛转录因子, 与 2 型糖尿病的基因变异紧密相关, 敲除 lncRNA HI-LNC25 后 GLIS3 mRNA 表达水平下降, 推测 HI-LNC25 可能与 2 型糖尿病发病相关<sup>[22]</sup>。促肾上腺皮质激素受体的激活依赖于 lncRNA SRA1, 敲除人胚胎和肾上腺细胞 SRA1 后促肾上腺皮质激素受体表达水平降低, 提示 SRA1 对肾上腺功能起重要作用<sup>[23]</sup>。lncRNAs 对维持机体正常生理节律起重要作用, 112 个 lncRNAs 在昼夜异常表达, 称之为 lncSNs, 其中 8 个依赖于视交叉-松果体通路, 摘除大鼠视交叉后昼夜节律消失<sup>[24]</sup>。在饥饿或生长停滞状态下, 上调 lncRNA MEG3 的表达会抑制糖皮质激素受体 DNA 表达, 从而抑制基因组 DNA 中的糖皮质激素反应元件目标受体和糖皮质激素的转录反应<sup>[25]</sup>。此外, lncRNAs 已被证实与一些内分泌肿瘤相关, 如乳腺、前列腺、卵巢、甲状腺和无功能垂体瘤等。以上研究均表明 lncRNAs 与内分泌系统疾病密切相关。

### 4 展望

lncRNAs 在 X 染色体失活、p53 介导的细胞凋亡、癌症转移和诱导多能干细胞重组等多种生理病理过程中充当重要角色, 成为多种疾病的潜在诊断标记物或治疗靶标。lncRNAs 的表达呈现出显著的组织特异性及时空特异性, 因此相对于 mRNA 或 microRNA 更有潜力成为一些疾病治疗的特异性靶标<sup>[26]</sup>。研究提示, lncRNAs 在多种内分泌组织器官中异常表达, 对其发育和功能至关重要, 可能是代谢性疾病的发病因素。上述研究已阐明 lncRNAs 对脂肪细胞发育分化的功能作用及可能的机制, 在活体内证实 lncRNAs 的功能有益于更好地发现和提供更多目标性的 lncRNAs, 作为肥胖可行的治疗策略。未来尚需更多体内和体外的研究去进一步证实 lncRNAs 对脂肪组织的功能作用和特征。

### 参考文献

- [1] Au PC, Zhu QH, Dennis ES, et al. Long non-coding RNA-mediated mechanisms independent of the RNAi pathway in animals and plants[J]. RNA Biol, 2011, 8(3): 404-414.
- [2] Struhl K. Transcriptional noise and the fidelity of initiation by RNA polymerase II[J]. Nat Struct Mol Biol, 2007, 14(2): 103-105. DOI: 10.1038/nsmb0207-103.
- [3] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: in-

- sights into functions[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3): 155-159. DOI: 10.1038/nrg2521.
- [4] Duret L, Chureau C, Samain S, et al. The Xist RNA gene evolved in eutherians by pseudogenization of a protein-coding gene[J]. *Science*, 2006, 312(5780): 1653-1655. DOI: 10.1126/science.1126316.
- [5] van Heesch S, van Iterson M, Jacobi J, et al. Extensive localization of long noncoding RNAs to the cytosol and mono- and polyribosomal complexes[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(1): R6. DOI: 10.1186/gb-2014-15-1-r6.
- [6] Tsai MC, Manor O, Wan Y, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes[J]. *Science*, 2010, 329(5992): 689-693. DOI: 10.1126/science.1192002.
- [7] Karreth FA, Tay Y, Perna D, et al. *In vivo* identification of tumor-suppressive PTEN ceRNAs in an oncogenic BRAF-induced mouse model of melanoma[J]. *Cell*, 2011, 147(2): 382-395. DOI: 10.1016/j.cell.2011.09.032.
- [8] He S, Liu S, Zhu H. The sequence, structure and evolutionary features of HOTAIR in mammals[J]. *BMC Evol Biol*, 2011, 11: 102. DOI: 10.1186/1471-2148-11-102.
- [9] Engström PG, Suzuki H, Ninomiya N, et al. Complex Loci in human and mouse genomes[J]. *PLoS Genet*, 2006, 2(4): e47. DOI: 10.1371/journal.pgen.0020047.
- [10] Beltran M, Puigñí, Peña C, et al. A natural antisense transcript regulates Zeb2/Sip1 gene expression during Snail1-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(6): 756-769. DOI: 10.1101/gad.455708.
- [11] Alexander R, Lodish H, Sun L. MicroRNAs in adipogenesis and as therapeutic targets for obesity[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2011, 15(5): 623-636. DOI: 10.1517/14728222.2011.561317.
- [12] Sun L, Goff LA, Trapnell C, et al. Long noncoding RNAs regulate adipogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(9): 3387-3392. DOI: 10.1073/pnas.1222643110.
- [13] You LH, Zhu LJ, Yang L, et al. Transcriptome analysis reveals the potential contribution of long noncoding RNAs to brown adipocyte differentiation[J]. *Mol Genet Genomics*, 2015, 290(5): 1659-1671. DOI: 10.1007/s00438-015-1026-6.
- [14] Alvarez-Dominguez JR, Bai Z, Xu D, et al. De novo reconstruction of adipose tissue transcriptomes reveals long non-coding RNA regulators of brown adipocyte development[J]. *Cell Metab*, 2015, 21(5): 764-776. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.04.003.
- [15] Zhao XY, Li S, Wang GX, et al. A long noncoding RNA transcriptional regulatory circuit drives thermogenic adipocyte differentiation[J]. *Mol Cell*, 2014, 55(3): 372-382. DOI: 10.1016/j.molcel.2014.06.004.
- [16] Hacisuleyman E, Goff LA, Trapnell C, et al. Topological organization of multichromosomal regions by the long intergenic noncoding RNA Firre[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21(2): 198-206. DOI: 10.1038/nsmb.2764.
- [17] Gernapudi R, Wolfson B, Zhang Y, et al. MicroRNA 140 promotes expression of long noncoding RNA NEAT1 in adipogenesis[J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 36(1): 30-38. DOI: 10.1128/MCB.00702-15.
- [18] Cooper DR, Carter G, Li P, et al. Long non-coding RNA NEAT1 associates with SRp40 to temporally regulate PPAR $\gamma$ 2 splicing during adipogenesis in 3T3-L1 Cells[J]. *Genes (Basel)*, 2014, 5(4): 1050-1063. DOI: 10.3390/genes5041050.
- [19] Xu B, Gerin I, Miao H, et al. Multiple roles for the non-coding RNA SRA in regulation of adipogenesis and insulin sensitivity[J]. *PLoS One*, 2010, 5(12): e14199. DOI: 10.1371/journal.pone.0014199.
- [20] Liu S, Sheng L, Miao H, et al. SRA gene knockout protects against diet-induced obesity and improves glucose tolerance[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(19): 13000-13009. DOI: 10.1074/jbc.M114.564658.
- [21] Morán I, Akerman I, van de Bunt M, et al. Human  $\beta$  cell transcriptome analysis uncovers lncRNAs that are tissue-specific, dynamically regulated, and abnormally expressed in type 2 diabetes[J]. *Cell Metab*, 2012, 16(4): 435-448. DOI: 10.1016/j.cmet.2012.08.010.
- [22] Nogueira TC, Paula FM, Villate O, et al. GLIS3, a susceptibility gene for type 1 and type 2 diabetes, modulates pancreatic beta cell apoptosis via regulation of a splice variant of the BH3-only protein Bim[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(5): e1003532. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003532.
- [23] Xu B, Yang WH, Gerin I, et al. Dax-1 and steroid receptor RNA activator (SRA) function as transcriptional coactivators for steroidogenic factor 1 in steroidogenesis[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(7): 1719-1734. DOI: 10.1128/MCB.01010-08.
- [24] Coon SL, Munson PJ, Cherukuri PF, et al. Circadian changes in long noncoding RNAs in the pineal gland[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(33): 13319-13324. DOI: 10.1073/pnas.1207748109.
- [25] Kino T, Hurt DE, Ichijo T, et al. Noncoding RNA gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor[J]. *Sci Signal*, 2010, 3(107): ra8. DOI: 10.1126/scisignal.2000568.
- [26] Cabili MN, Trapnell C, Goff L, et al. Integrative annotation of human large intergenic noncoding RNAs reveals global properties and specific subclasses[J]. *Genes Dev*, 2011, 25(18): 1915-1927. DOI: 10.1101/gad.17446611.

(收稿日期: 2016-04-01)