

lncRNA 治疗糖尿病难愈性创面的研究现状

张璟琳, 汪 虹

(昆明医科大学第二附属医院烧伤科/云南省烧伤研究所, 云南 昆明 650101)

摘要:糖尿病难愈性创面是糖尿病最常见的并发症之一, 创面通常愈合不良, 给患者带来沉重的生理、心理负担。lncRNA 是一种长度超过 200 nt 的非编码 RNA 分子, 其作为调控关键基因表达的因子参与糖尿病创面的愈合过程。已有大量研究表明 lncRNA 参与创面愈合的过程, 多种 lncRNA 可成为治疗糖尿病创面的治疗靶点。本文就 lncRNA 参与创面愈合的机制、在糖尿病难愈性创面中的研究进展进行综述, 以期对糖尿病难愈性创面的治疗提供更好的临床思路。

关键词:长链非编码 RNA; 创面愈合; 糖尿病难愈性创面

中图分类号:R622+.9; R459.9

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2022.08.006

文章编号:1006-1959(2022)08-0021-04

Research Status of lncRNA in Treatment of Diabetic Refractory Wounds

ZHANG Jing-Lin, WANG Hong

(Department of Burns, the Second Affiliated Hospital, Kunming Medical University/Burn Institute of Yunnan Province, Kunming 650101, Yunnan, China)

Abstract: Diabetic wounds are the most common complications of diabetes. Wounds usually heal poorly, bringing heavy physical and psychological burden to patients. lncRNA is a non-coding RNA molecule with a length of more than 200nt, which participates in the healing process of diabetic wounds as a factor regulating the expression of key genes. A large number of studies have shown that lncRNA are involved in the process of wound healing, and a variety of lncRNA can become therapeutic targets for treating diabetic wounds. In this paper, the mechanism of lncRNA's involvement in wound healing and research progress in diabetic refractory wounds are reviewed, in order to provide better clinical ideas for the treatment of diabetic refractory wounds.

Key words: Long non-coding RNA; Wound healing; Diabetic refractory wounds

随着人口老龄化加剧、糖尿病发病率逐年升高, 以糖尿病创面为代表的慢性难愈合创面的治疗难题亟须解决。糖尿病足部溃疡是糖尿病最常见的并发症^[1], 而糖尿病创面通常愈合不良, 最终导致严重的足部溃疡、伤口坏疽甚至截肢。糖尿病难愈性创面治疗过程复杂, 费用昂贵, 不易治愈。随着医学技术不断发展, 已有多种技术研究治疗糖尿病难愈性创面, 如创面负压技术、干细胞移植技术、富血小板凝胶、外泌体等。有研究指出^[2,3], 长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNA) 可能参与糖尿病创面的愈合过程。目前, 在研究 lncRNA 在创面愈合中的作用机制及促进糖尿病创面愈合的应用方面均有进展, 本文主要就 lncRNA 在以上方面的进展进行综述。

1 长链非编码 RNA 的定义、结构及功能

lncRNA 是一种长度超过 200 nt, 但不编码蛋白的 RNA 分子^[4]。据 Human GENCODE 的统计表明^[5], 人类基因组中包含超过 16 000 个 lncRNA 基因。其主要包括 RNA 聚合酶 II 转录的 lncRNA、其他 RNA 聚合酶转录的 lncRNA 和来自基因中间的 lncRNA,

以及与其他基因重叠的正义或反义转录本。

lncRNA 包含两种功能元件, 一种是与其他核酸、蛋白质或脂类直接物理交互的相互作用元件; 另一种是结构元件, 导致二级和/或三级 3D RNA 结构的发生, 从而指导它们的功能相互作用^[6]。正是通过线性形式的碱基配对或二级结构中的化学交互作用, 使得 lncRNA 比 miRNA 具有更多与 DNA、RNA 以及蛋白质相互作用的能力^[7]。

lncRNA 最早被认为是转录副产物, 但有越来越多的研究表明 lncRNA 具有重要的细胞功能^[8]。lncRNA 可通过影响转录因子结合而影响基因表达, 也可影响染色质生物学的其他方面, 如调控组蛋白修饰、染色质修饰、调控 DNA 复制或 DNA 损伤和修复的反应^[9]。此外, lncRNA 还可在多个水平上调控基因表达, lncRNA 与 RNAs 的相互作用可能会影响 RNA 的剪接、稳定性和翻译以及信号通路等^[4]。同样, lncRNA-蛋白相互作用可能会影响蛋白的稳定性、活性或定位。此外, 与 lncRNA 长度范围相似的环状 RNAs, 可作为 miRNA 的海绵起调控作用。

2 长链非编码 RNA 在创面愈合中的机制

lncRNA 与复杂的生物过程有关, 如免疫细胞发育和功能、免疫紊乱、神经发育和神经疾病。随着对 lncRNA 的深入研究, 它在伤口愈合方面中的调控作用逐渐被关注到。伤口愈合是一个基本而复杂的过程, 需要在受伤后恢复皮肤的完整性, 这是通过一系

基金项目: 昆明医科大学研究生创新基金项目 (编号: 2021S210)

作者简介: 张璟琳 (1995.12-), 女, 陕西西安人, 硕士研究生, 住院医师, 主要从事创面修复、整形等方面的研究

通讯作者: 汪虹 (1963.10-), 男, 云南昆明人, 硕士, 主任医师, 主要从事创面修复、整形等方面的研究

列有序的阶段来实现的:止血、炎症、增殖和重塑^[10]。如果不能进行这种有序和及时的修复,就会导致慢性无法愈合的伤口。针对 lncRNA 的治疗是一种非常具有前途的治疗各种疾病的方法,不同功能的 lncRNA 其治疗手段需要根据 lncRNA 的作用方式进行调整^[7]。lncRNA 的靶向可能包括转录抑制、转录后抑制、二级结构形成或蛋白质相互作用的空间阻碍、合成 lncRNA 的引入、以及通过 CRISPR-Cas9 和 CRISPR-Cas13 调节 lncRNA 基因组位点或表达模式等。

2.1 lncRNA 调控创面愈合中的炎症过程 调节炎症对于组织损伤后的修复和内稳态的恢复至关重要。巨噬细胞表型从促炎表型到促溶解/愈合的功能转变有助于组织损伤后的愈合和内稳态的恢复。有报道发现^[11],lncFAO 是炎症巨噬细胞晚期代谢重编程的介质,通过促进巨噬细胞中的脂肪酸氧化,有助于小鼠的炎症消退和组织修复。lncFAO 可直接与线粒体蛋白的 HADHB 亚基相互作用并激活脂肪酸氧化,从而调节线粒体代谢,在巨噬细胞中起到免疫代谢调控节点的作用。LOC100130476 又称为 WAKMAR2,可限制角质形成细胞产生炎症趋化因子,同时增强细胞迁移,也有促进创面愈合的效果^[12]。

2.2 lncRNA 调控创面愈合中的细胞增殖 lncRNA 通过调控表观遗传中的 DNA 甲基化的功能、靶向与 miRNA 结合、调控 RNA 翻译,以此实现细胞增殖、创面愈合。LOC105372576 即 WAKMAR1 通过隔离 DNMT 和干扰 E2F1 启动子的甲基化来激活 E2F1 表达^[13]。E2F1 是迁移基因网络上游的一个关键转录因子,所以 WAKMAR1 可调控角质形成细胞的运动性和人离体皮肤创面的再上皮化能力。有报道称^[14],XIST/miR29a/Lin28a ceRNA 网络在烧伤后变性真皮修复即调节增殖、迁移和细胞外基质合成中起重要作用。同样的是,LINC00672 通过与 miR-619-5p 结合形成海绵效应,调节 PI3K-AKT3 通路^[15]。当抑制 LINC00672 时可促进人皮肤成纤维细胞转化为角质形成细胞样细胞,角质形成细胞样细胞有促进创面愈合的能力。此外,H19 在 ADSC-EXOs 中的高表达,通过抑制 miR-19b,促进 SOX9 的表达,以促进 HSF 细胞增殖、迁移,从而使皮肤创面愈合^[16]。TINCR 编码的泛素样蛋白即 TUBL,以一种独立于 TINCR 的 RNA 二级结构的方式促进细胞周期进展,以促进细胞增殖、皮肤伤口的愈合^[17]。

2.3 lncRNA 调控创面愈合中的血管新生 血管生成是创面愈合过程中增殖期的重要活动,包括内皮细胞增殖和内皮细胞迁移,以及毛细血管样管的形成

和成熟为新的血管^[18]。有研究表明^[1],lncRNA NONHSAT073641 能促进内皮血管新生功能。HO-TAIR 和 SCEL 可与 miR-126 竞争性结合,发挥竞争性内源 RNA 的功能。HOTAIR/miR-126/SCEL 轴通过介导血管新生促进烧伤创面愈合^[19]。lncRNA EN-ST00000563492 通过下调 miR-205-5p 的功能,促进 CDH11 和 VEGF 的表达,间接调控血管新生^[20]。

2.4 lncRNA 调控细胞外基质的形成 MMPs 是一个锌依赖性内肽酶家族,降解参与组织重塑的细胞外基质成分。当蛋白酶活性过高会导致伤口愈合延迟,如基质金属蛋白酶-9^[21]。有报道称^[22],lncRNA TETILA 调节 TET2 的活性和定位,通过 RNA-TET2 的相互作用在 lncRNA 和去甲基化蛋白之间建立了功能联系。具体来说,TETILA 作为分子支架,提供结合表面来组装去甲基化酶 TET2 和 TDG。该支架有助于将该复合物靶向基质金属蛋白酶-9 启动子,促进基质金属蛋白酶-9 去甲基化和转录激活,从而调控细胞外基质的形成。

3 长链非编码 RNA 在糖尿病创面愈合中的研究进展

糖尿病足溃疡(diabetic foot ulcer,DFU)是糖尿病常见且重要的并发症,具有发病率高、预后差的特点。目前有越来越多的学者关注到 lncRNA 在糖尿病难愈性创面领域的作用。lncRNA 可作为治疗靶标,通过调节炎症反应,促进细胞增殖、成管、迁移能力,抑制细胞凋亡,促进淋巴液产生,调节免疫失衡等全方面多角度地促进糖尿病难愈性创面愈合。长链非编码 RNA 也可以作为诊断标记物在糖尿病伤口中发挥作用。

糖尿病创面难愈是多种因素导致,其中一个中心因素为持续存在的慢性炎症^[23]。有报道称,在炎症伤口修复过程中,miR-17、miR-18a、miR-19a、miR-19b 和 miR-20a 中被上调。从机理上讲,miR-19a/b 和 miR-20a 分别通过靶向 SHCBP1 和 SEMA7A 降低 TLR3 介导的 NF- κ B 活化,从而减少了角质形成细胞的炎症趋化因子和细胞因子的产生,从而促进糖尿病创面愈合^[24]。另有研究发现^[25],lncRNA GAS5 过表达通过显著诱导 STAT1 表达促进 M1 巨噬细胞表型的表达,参与巨噬细胞极化调节,以促进糖尿病创面愈合。血管新生受损,也是糖尿病创面难愈合的一个重要因素。有报道称 lncRNA GAS5 通过与 TAF15 结合激活 HIF1A/VEGF 通路,促进高糖培养的 HUVECs 的细胞增殖、创面愈合和小管形成,以加速糖尿病足溃疡的创面愈合^[26]。淋巴管生产缓慢是导致糖尿病创面愈合受损的一个重要原因。lncRNA ANRIL 可以通过海绵吸收 miR-181a 来增

强 Prox1 的表达,从而促进淋巴管生成,提高糖尿病创面愈合的效果^[3]。有研究发现^[27],T 淋巴细胞的免疫功能紊乱可能与 DFU 的发生密切相关,且 lncRNA-ENST00000411554/MAPK1 轴介导的 MAPK 信号转导通路的激活可能会影响 DFU 免疫调节失衡。lncRNA H19 在触发血管生成中起着重要作用^[28],而 lncRNA H19 的表达水平在糖尿病中显著降低^[29]。有研究将 lncRNA H19 装载到细胞外囊泡模拟纳米囊泡中,并将负载藻酸盐水凝胶的 lncRNA H19 纳米囊泡作为敷料应用于体内实验模型的伤口床上,表明其确有改善慢性创面的血供、促进再上皮化、创面愈合的作用^[2]。有报道称^[30],lncRNA H19 可以募集 EZH2 介导的组蛋白甲基化,并调节 HIF-1 α 信号通路,促进成纤维细胞活化,从而促进糖尿病伤口愈合。此外,lncRNA H19 上调可通过竞争性结合 miR-29b 提高 FBN1 的表达,增强成纤维细胞的增殖、迁移,抑制成纤维细胞凋亡,从而促进糖尿病足溃疡创面愈合^[31]。MSC 衍生的外泌体中的 lncRNA H19 通过削弱 miR-152-3p 介导的 PTEN 抑制作用,来防止成纤维细胞的凋亡和炎症,从而刺激糖尿病伤口的愈合^[32]。不仅如此,有研究发现 H19 也可以作为鉴定糖尿病活动期的新生物标志物存在^[33],但需要更大的队列研究来证明其作为临床生物标志物的能力。

除此之外,其他新鉴定的一些 lncRNA 通过某些潜在的治疗靶点,同样可调节糖尿病创面情况。lncRNA MRAK052872 即 Lnc-URIDS 可与 Plod1 的结合,导致 Plod1 的蛋白质稳定性降低,最终导致胶原生成和沉积的失调,并延迟伤口愈合。当敲除 Lnc-URIDS 时,可促进成纤维细胞迁移,加速体内糖尿病伤口愈合。lncRNA Rik 可以作为 ceRNA 与 miR-181a-5p 结合,从而促进糖尿病角膜上皮伤口的体外愈合^[9]。

通过药物或其他不同的治疗手段,同样可以调节 lncRNA 促进糖尿病创面愈合。有报道发现^[34],改良的自体血液保存可以有效改善小鼠血液的生理状态,且其中上调的 lncRNA MALAT1,可通过激活 HIF-1 α 信号通路加速糖尿病小鼠的成纤维细胞活化和伤口愈合;局部应用美伐他汀,诱导长链非编码 RNA Gas5 的表达,从而阻断了 c-Myc 的表达,逆转了 DFUs 中 c-Myc 的过表达,并通过多种机制促进上皮化,从而加速糖尿病伤口闭合。此外,lncRNA 靶向治疗的方法可通过注射由 EMNVs、慢病毒或外泌体携带的过表达 lncRNA,用 RNAi 沉默靶基因的方式来改善糖尿病伤口愈合情况^[33]。

4 总结

lncRNA 在糖尿病难愈创面的诸多愈合机制中发挥了极其重要的作用,随着对糖尿病难愈性创面的深入研究,lncRNA H19 等一批 lncRNA 极有可能成为未来治疗糖尿病难愈性创面的关键靶点。但目前 lncRNA 的治疗仍停留在动物实验阶段,仍需对 lncRNA 的安全性进行更深入的研究。

参考文献:

- [1]Josipovic I,Fork C,Preussner J,et al.PAFAH1B1 and the lncRNA NONHSAT073641 maintain an angiogenic phenotype in human endothelial cells[J].Acta Physiol (Oxf),2016,218(1):13-27.
- [2]Tao SC,Rui BY,Wang QY,et al.Extracellular vesicle-mimetic nanovesicles transport LncRNA-H19 as competing endogenous RNA for the treatment of diabetic wounds [J].Drug Deliv,2018,25(1):241-255.
- [3]He ZY,Wei TH,Zhang P,et al.Long noncoding RNA-antisense noncoding RNA in the INK4 locus accelerates wound healing in diabetes by promoting lymphangiogenesis via regulating miR-181a/Prox1 axis[J].J Cell Physiol,2019,234(4):4627-4640.
- [4]Statello L,Guo CJ,Chen LL,et al.Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions [J].Nat Rev Mol Cell Biol,2021,22(2):96-118.
- [5]Usczyńska-Ratajczak B,Lagarde J,Frankish A,et al.Towards a complete map of the human long non-coding RNA transcriptome[J].Nat Rev Genet,2018,19(9):535-548.
- [6]Fabbri M,Girmita L,Varani G,et al.Decrypting noncoding RNA interactions, structures, and functional networks [J].Genome Res,2019,29(9):1377-1388.
- [7]Winkle M,El -Daly SM,Fabbri M,et al.Noncoding RNA therapeutics - challenges and potential solutions [J].Nat Rev Drug Discov,2021,20(8):629-651.
- [8]Ransohoff JD,Wei YN,Khavari PA.The functions and unique features of long intergenic non-coding RNA [J].Nat Rev Mol Cell Biol,2018,19(3):143-157.
- [9]Chen XX,Hu JZ.Long noncoding RNA 3632454L22Rik contributes to corneal epithelial wound healing by sponging miR-181a-5p in diabetic mice [J].Invest Ophthalmol Vis Sci,2021,62(14):16.
- [10]Reinke JM,Sorg H.Wound repair and regeneration [J].Eur Surg Res,2012,49(1):35-43.
- [11]Nakayama Y,Fujiu K,Yuki R,et al.A long noncoding RNA regulates inflammation resolution by mouse macrophages through fatty acid oxidation activation [J].PNAS,2020,117(25):14365-14375.
- [12]Herter EK,Li DQ,Toma MA,et al.WAKMAR2, a long noncoding RNA downregulated in human chronic wounds, modulates keratinocyte motility and production of inflammatory chemokines[J].J Invest Dermatol,2019,139(6):1373-1384.

- [13]Li DQ,Kular L,Vij M,et al.Human skin long noncoding RNA WAKMAR1 regulates wound healing by enhancing keratinocyte migration [J].Proc Natl Acad Sci U S A,2019,116(19): 9443-9452.
- [14]Guo L,Huang X,Liang PF,et al.Role of XIST/miR-29a/LIN28A pathway in denatured dermis and human skin fibroblasts (HSFs) after thermal injury[J].J Cell Biochem,2018,119(2): 1463-1474.
- [15]Zhang F,Zhang DD,Cheng K,et al.Spontaneous evolution of human skin fibroblasts into wound-healing keratinocyte-like cells[J].Theranostics,2019,9(18):5200-5213.
- [16]Qian L,Pi L,Fang BR,et al.Adipose mesenchymal stem cell-derived exosomes accelerate skin wound healing via the lncRNA H19/miR-19b/SOX9 axis[J].Lab Invest,2021,101(9):1254-1266.
- [17]Nita A,Matsumoto A,Tang RH,et al.A ubiquitin-like protein encoded by the "noncoding" RNA TINCR promotes keratinocyte proliferation and wound healing [J].PLoS Genet, 2021,17(8):e1009686.
- [18]Gonzalez AC,Costa TF,Andrade ZA,et al.Wound healing - A literature review[J].An Bras Dermatol,2016,91(5):614-620.
- [19]Jiang BM,Tang YT,Wang H,et al.Down-regulation of long non-coding RNA HOTAIR promotes angiogenesis via regulating miR-126/SCEL pathways in burn wound healing[J].Cell Death Dis,2020,11(1):61.
- [20]Ouyang ZX,Tan TT,Zhang XH,et al.LncRNA EN-ST00000563492 promoting the osteogenesis-angiogenesis coupling process in bone mesenchymal stem cells (BMSCs) by functions as a ceRNA for miR-205-5p [J].Cell Death Dis,2020,11 (6):486.
- [21]Li GC,Zou XH,Zhu YP,et al.Expression and influence of matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and vascular endothelial growth factor in diabetic foot ulcers[J].Int J Low Extrem Wounds,2017,16(1):6-13.
- [22]Zhou LY,Ren M,Zeng TT,et al.TET2-interacting long noncoding RNA promotes active DNA demethylation of the MMP-9 promoter in diabetic wound healing[J].Cell Death Dis, 2019,10(11):813.
- [23]Pierce GF.Inflammation in nonhealing diabetic wounds:the space-time continuum does matter [J].Am J Pathol,2001,159(2): 399-403.
- [24]Li DQ,Peng HM,Qu L,et al.miR-19a/b and miR-20a promote wound healing by regulating the inflammatory response of keratinocytes[J].J Invest Dermatol,2021,141(3):659-671.
- [25]Hu JY,Zhang LP,Liechty C,et al.Long noncoding RNA GAS5 regulates macrophage polarization and diabetic wound healing[J].J Invest Dermatol,2020,140(8):1629-1638.
- [26]Peng WX,He PX,Liu LJ,et al.LncRNA GAS5 activates the HIF1A/VEGF pathway by binding to TAF15 to promote wound healing in diabetic foot ulcers [J].Lab Invest,2021,101(8): 1071-1083.
- [27]Xu SJ,Weng XY,Wang Y,et al.Screening and preliminary validation of T lymphocyte immunoregulation-associated long non-coding RNAs in diabetic foot ulcers [J].Mol Med Rep, 2019,19(3):2368-2376.
- [28]Jia P,Cai H,Liu XB,et al.Long non-coding RNA H19 regulates glioma angiogenesis and the biological behavior of glioma-associated endothelial cells by inhibiting microRNA-29a[J].Cancer Lett,2016,381(2):359-369.
- [29]Ding GL,Wang FF,Shu J,et al.Transgenerational glucose intolerance with Igf2/H19 epigenetic alterations in mouse islet induced by intrauterine hyperglycemia [J].Diabetes,2012,61 (5): 1133-1142.
- [30]Guo JR,Yin L,Chen YQ,et al.Autologous blood transfusion augments impaired wound healing in diabetic mice by enhancing lncRNA H19 expression via the HIF-1 α signaling pathway [J].Cell Commun Signal,2018,16(1):84.
- [31]Li B,Zhou Y,Chen J,et al.Long noncoding RNA H19 acts as a miR-29b sponge to promote wound healing in diabetic foot ulcer[J].FASEB J,2021,35(1):e20526.
- [32]Li B,Luan S,Chen J,et al.The MSC-derived exosomal lncRNA H19 promotes wound healing in diabetic foot ulcers by upregulating PTEN via microRNA-152-3p [J].Mol Ther Nucleic Acids,2020(19):814-826.
- [33]Kuai L,Jiang JS,Li W,et al.Long non-coding RNAs in diabetic wound healing: current research and clinical relevance [J].Int Wound J,2022,19(3):583-600.
- [34]Sawaya AP,Pastar I,Stojadinovic O,et al.Topical mevastatin promotes wound healing by inhibiting the transcription factor c-Myc via the glucocorticoid receptor and the long non-coding RNA Gas5[J].J Biol Chem,2018,293(4):1439-1449.

收稿日期:2022-02-08;修回日期:2022-03-10

编辑/成森