

lncRNA选择性剪接调控的研究进展*

季慧慧¹⁾ 赵永杰²⁾ 郑中华¹⁾ 段世伟^{1)**}

(¹⁾ 宁波大学医学院, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211; ²⁾ 新疆医科大学第一附属医院老年病科, 乌鲁木齐 830054)

摘要 长链非编码RNA (lncRNA) 选择性剪接是指剪除未成熟lncRNA中的内含子, 并将外显子连接起来生成成熟lncRNA的过程. 在各类疾病发生和发展过程中, 异常的选择性剪接起着重要作用. lncRNA选择性剪接直接参与膀胱癌、结直肠癌、肝癌、神经母细胞瘤等多种肿瘤的发病机制, 且与胚胎发育、软骨毛发发育、多系统萎缩症等紧密相关. 在此, 我们对lncRNA选择性剪接的起因、调控机制以及对疾病影响的研究进展进行综述. 此外, 本文还介绍了两个与lncRNA选择性剪接相关的数据库 (SpliceMap和LNCediting).

关键词 lncRNA, 选择性剪接, 疾病发生, 异构体

中图分类号 R394.3

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0240

长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一类长度在200 nt以上且不具有蛋白质编码潜能的RNA分子, 其表达水平的调控与胚胎的生长发育过程有关, 具有组织和细胞特异性^[1]. lncRNA按照编码基因的位置被分为3个部分, 即基因间区lncRNA (intergenic lncRNA, lincRNA)、内含子区lncRNA (intronic lncRNA) 和反义编码区lncRNA (antisense lncRNA). lncRNA可以通过与DNA、RNA及蛋白质结合, 参与基因的转录前、转录中、转录后 (调控mRNA选择性剪接, ceRNA) 及转录后翻译 (参与蛋白质磷酸化) 等过程的调控. lncRNA本身的转录过程也会受到调控, 包括lncRNA基因的甲基化、组蛋白乙酰化或甲基化、lncRNA的选择性剪接等^[2-3]. lncRNA通过选择性剪接可生成不同的转录本, 从而在生命过程中发挥重要的作用. 同样地, lncRNA也可以同时含有一个 (如MALAT1、PAUPAR) 或多个 (如HOTAIR、XIST) 外显子^[4-7]. lncRNA被认为执行了重要的调控功能, 从而与疾病发展息息相关. 本文分析和总结了lncRNA选择性剪接的最新研究进展, 并整理及比较了SpliceMap和LNCediting这两个主要的lncRNA选择性剪接数据库.

1 lncRNA选择性剪接位点

Nitsche等^[8]通过剪接位点的保守性来追踪lncRNA的进化过程, 结果显示85%以上的人类lncRNA早就已经存在于胎盘哺乳动物的分化过程中, 并且数百种lncRNA可以追溯到更久之前. 此外, 他们还观察到了内含子/外显子结构的快速变化. 该研究结论认为, lncRNA基因是脊椎动物基因组进化过程中的古老组成部分, 并且拥有意想不到的进化可塑性. Haerty等^[9]在果蝇、斑马鱼、矛尾鱼、小鼠和人类中均发现, 单外显子的lncRNA的GC含量仅略高于它们未转录的侧面序列, 却显著低于多外显子lncRNA. 相较于单外显子的lncRNA, 发现多外显子的lncRNA的GC含量和蛋白质编码基因更加相近, 且包含外显子剪接增强子从而提高相邻剪接位点活性的序列. NAGNAG选择性剪接在生命过程中起着重要作用, 并且代表了一种高度适应性的基因转录翻译后调控系统^[10]. 之前, 对NAGNAG的研究主要集中在mRNA上^[11-12]. 2014年, Shi等^[13]在探索拟南芥中

* 宁波大学王宽诚幸福基金资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 18858014376, E-mail: duanshiwei@nbu.edu.cn

收稿日期: 2018-09-08, 接受日期: 2018-11-12

NAGNAG受体的动态特征时,鉴定出两种来自相同NAGNAG受体且均位于非编码RNA中的同种型,从而验证了NAGNAG选择性剪接的存在.之后, Sun等^[14]首次在人类组织中研究位于lncRNA上NAGNAG的选择性剪接机制.他们使用NCBI SRA数据集(E-MTAB-513和GSE30554),在lncRNA中发现31个NAGNAG选择性剪接位点.大部分含有NAGNAG受体的lncRNA外显子都比相应的蛋白质编码基因的外显子要长.GC编码的存在参与剪接位点的选择,NAGNAG lncRNA亚型的表达水平具有组织特异性^[14].由此可见,lncRNA的选择性剪接很可能与GC含量及NAGNAG受体存在有关.

2 lncRNA选择性剪接与疾病的关系

近几年来,lncRNA选择性剪接与人类疾病的关系被逐渐揭示.lncRNA的选择性剪接能够产生不同的转录本,从而对众多的生物学过程产生影响,在细胞周期调控、表观遗传调控、干细胞的自我更新、胚胎的生长发育以及肿瘤等疾病的发生和发展过程中发挥重要作用(图1、表1).

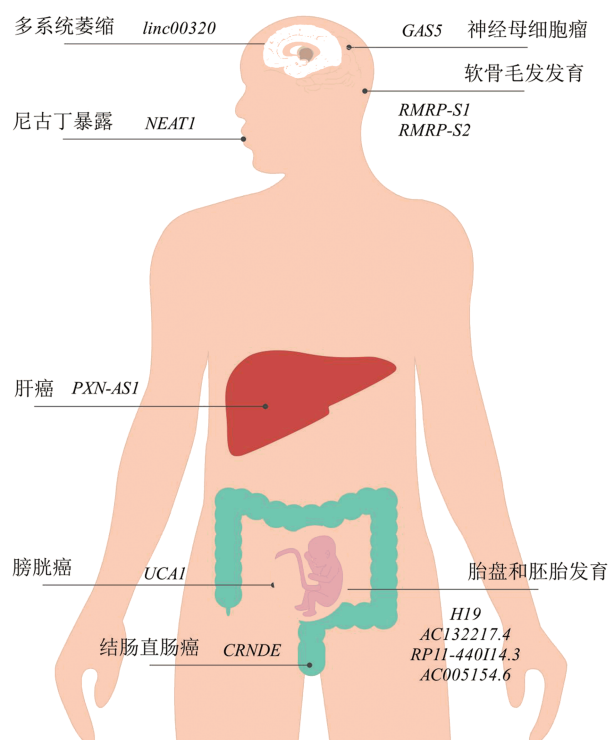


Fig. 1 The relationship between lncRNA alternative splicing and disease

图1 lncRNA选择性剪接和疾病之间的关系

Table 1 The relationship between lncRNA alternative splicing and disease

表1 lncRNA选择性剪接和疾病之间的关系

lncRNA	基因组区域	结果	相关疾病
<i>linc00320</i> ^[15]	第2外显子	与正常大脑相比,无论是在灰质还是白质组织中,多系统萎缩症患者大脑中 <i>linc00320-002</i> 的表达水平均出现显著提高的现象	多系统萎缩
<i>GAS5</i> ^[16]	第7外显子末端	<i>GAS5</i> 的C2剪接变体在MYCN扩增细胞系(CHLA-122和SMS-KAN)中表达显著提高,从而促进疾病的发生	神经母细胞瘤
<i>NEAT1</i> ^[17]	~	尼古丁暴露组的上皮细胞与正常组上皮细胞(MCF-10A)相比较, <i>NEAT1</i> (Hs01008264_s1)的表达水平显著下降,且出现选择性剪接的现象	尼古丁暴露
<i>RMRP-S1</i> 、 <i>RMRP-S2</i> ^[18]	~	RNase MRP的点突变可引起软骨毛发发育缺陷病,与正常对照相比,软骨毛发发育缺陷患者的成纤维细胞和B细胞中 <i>RMRP-S1</i> 和 <i>S2</i> 的表达量明显降低	软骨毛发发育
<i>PXN-AS1</i> ^[19]	第4外显子	可变剪切因子MBNL5通过lncRNA-PXN-AS1的选择性剪接可以增加癌基因 <i>PXN</i> 表达从而促进肝癌的发生	肝癌
<i>UCA1</i> ^[20]	~	与膀胱正常组织相比,lncRNA <i>UCA1</i> 在肿瘤组织中呈高表达,从而调节细胞的增值、侵袭、转移及凋亡等过程	膀胱癌
<i>CRNDE</i> ^[21]	第4外显子	<i>CRNDE</i> 表达在结直肠癌、胶质瘤及白血病等多种肿瘤中出现上调的现象	结直肠癌
<i>H19</i> ^[22-24]	女性胎盘第27号外显子	<i>H19</i> 表达异常可能会导致早发型子痫前期及胎儿发育迟缓	胎盘和胚胎发育
<i>AC132217.4</i> ^[25]	男性胎盘第15号外显子	<i>AC132217.4</i> 能够影响3'-UTR区域及增强子的表达水平,增加mRNA的稳定性及提高 <i>IGF2</i> 循环生长因子的表达水平,从而促进胎盘及胎儿生长	
<i>RP11-440I14.3</i> ^[26]	女性胎盘第5号和7号外显子	<i>RP11-440I14.3</i> 能够抑制前列腺素E2和前列腺素D2的活性,从而影响生殖、分化及炎症等生物学过程	
<i>AC005154.6</i> ^[27]	男性胎盘第13号外显子	<i>AC005154.6</i> 表达异常与胎盘和胚胎的发育相关	

2.1 肿瘤中的lncRNA选择性剪接

2.1.1 膀胱癌中lncRNA的选择性剪接

lncRNA的功能异常,使肿瘤相关基因表观遗传修饰发生改变,进而促进肿瘤的发生.与膀胱正常组织相比,lncRNA *UCA1*在肿瘤组织中呈高表达,可调节细胞的增殖、侵袭、转移及凋亡等过程^[20].王宇等^[28]应用电子克隆和cDNA末端快速扩增技术发现,相较于*UCA1*-long form,*UCA1*-short form对膀胱癌细胞UM-UC-2表现出较强的恶性潜力.

2.1.2 结直肠癌中lncRNA的选择性剪接

lncRNA基因*CRNDE*在大肠癌的早期被激活,但其调节和功能不明,被认为是结直肠肿瘤差异表达的基因记号,能表达出多种剪接变异体且具有组织特异性表达模式.*CRNDE*的转录产物与染色质修饰复合物相互作用,通过表观遗传修饰水平的改变来调节基因的表达.*CRNDE*选择性剪接产生的转录产物可作为多梳抑制复合物2和CoREST染色质修饰复合物的分子支架^[29].*CRNDE*的表达水平在结直肠癌、胶质瘤及白血病等多种肿瘤中均出现上调的现象.到目前为止,已知的*CRNDE*的选择性剪接产物至少有10种,结直肠癌细胞系和结直肠癌组织中*CRNDE*的同种型转录产物被定量后,Graham等^[21]根据*CRNDE*的表达量将其分成*CRNDE-a*、*-b*、*-d*、*-e*、*-f*、*-h*和*-j*7种转录本亚型,发现在结直肠肿瘤最早期,除*CRNDE-d*以外,*CRNDE*的其他转录产物表达量在90%以上的肿瘤中都出现显著性上调的现象.另外,根据*CRNDE-h*的表达水平可以有效地区分正常黏膜和腺瘤^[21].因为结直肠腺瘤发展成恶性肿瘤的潜力可以通过息肉切除术来终止,所以在临床筛查腺瘤中使用诸如此类的生物标志物,不仅可以提供结直肠癌的早期检测,而且还可以实际预防结直肠癌.此外,Furney等^[30]在*SF3B1*野生型黑色素肿瘤中观察到第4号外显子的所有碱基的reads数目接近均匀,但在*SF3B1*突变型肿瘤中该外显子的3'末端的reads数目出现富集.该现象暗示,lncRNA *CRNDE*第4号外显子上可能存在选择性剪接位点.通过qRT-PCR,他们在58例*SF3B1*野生型黑色素肿瘤和16例突变型黑色素肿瘤中验证了*CRNDE*第4号外显子上选择性剪接位点的存在.由此可见,*SF3B1*突变情况受lncRNA *CRNDE*选择性剪接的影响,这些基因可能在黑色素瘤的病因学中起作用.综上,lncRNA *CRNDE*的选择性剪接机制在结直肠

癌及黑色素瘤中扮演着重要角色.

2.1.3 肝癌中lncRNA的选择性剪接

可变剪切因子MBNL3通过lncRNA-PXN-AS1的选择性剪接可以增加癌基因*PXN*的表达从而促进肝癌的发生.Yuan等^[19]发现剪切因子MBNL3可调控lncRNA-PXN-AS1的选择性剪接,产生2种不同的剪接异构体.在MBNL3存在时,lncRNA-PXN-AS1的第4外显子会留在成熟的非编码RNA中,命名为lncRNA-PXN-AS1-L,而敲除MBNL3后,第4外显子会被剪掉,命名为lncRNA-PXN-AS1-S.通过对这2个lncRNA的深入分析,研究人员发现PXN-AS1-L是通过结合*PXN* mRNA的3' UTR,保护了*PXN* mRNA免受miR-24-AGO2复合物降解,从而提高了*PXN*的表达丰度.与PXN-AS1-L相反,PXN-AS1-S则通过结合*PXN* mRNA的CDS区域,抑制了*PXN* mRNA的翻译延伸,从而降低*PXN*蛋白在体内的含量.MBNL3则是通过诱导lncRNA-PXN-AS1的4号外显子表达,间接地提高*PXN*的表达丰度.由此可见,lncRNA不同的剪接异构体很可能具有截然相反的生物学功能.

2.1.4 神经母细胞瘤中lncRNA的选择性剪接

生长阻滞特异性转录本5 (lncRNA-*GAS5*)最早是从NIH 3T3小鼠成纤维细胞中分离出来的,含有12个外显子、10个C/D box snoRNA及1个保守的5'末端寡嘧啶束^[31],该转录本至少含有29种剪接变异体(10个lncRNA及19个未处理的序列).*GAS5*的过度表达能够抑制肿瘤的增殖、迁移和上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[32].据报道,在原代恶性胸膜间皮瘤(MPM)细胞系中发现,部分*GAS5*剪接变体可诱导生长停滞和细胞凋亡^[33],但目前关于这些变体具体功能特征的研究并不多.除*GAS5*剪接变体-001(全长)之外,Mazar等^[16]在神经母细胞瘤中还发现了3种未见报道的变体(C2、C3和C4).与FL产物不同,C2剪接变体从7号外显子末端(77 bp外显子)丢失了39个碱基对,C3剪接变体不包含9号、10号外显子,C4剪接变体不但完全丧失10号外显子,且具有与C2中相同的7号外显子的39 bp缺失.在SK-N-AS细胞中,FL和C3剪接变体的表达较高,而在IMR-32细胞中C2和C4剪接变体的表达较高.进一步的研究发现,C2剪接变体在MYCN扩增细胞系(CHLA-122和SMS-KAN)中表达均显著提高,在非MYCN扩增的细胞系(LA-N-6和CHLA-15)中表达却有所下降.

由此可见, 在 MYCN 扩增和未扩增的神经母细胞瘤细胞系之间, *GAS5* 剪接变体表达的模式存在差异.

2.1.5 肿瘤上皮-间质转化过程中 lncRNA 的选择性剪接

EMT 是肿瘤侵袭和转移的首要步骤, 而 E 盒结合锌指蛋白 (zinc finger E-box binding protein, ZEB) 正是 EMT 最主要的转录因子之一. 异质性核糖核蛋白 E1 (hnRNP E1) 通过与蛋白磷酸酶 1 核靶向亚基 protein (phosphatase 1 nuclear targeting subunit, *PNUTS*) 前体第 12 外显子中的核酸结构元件结合, 通过抑制 *PNUTS* 的选择性剪接, 产生 *PNUTS* mRNA (NM_002714.3). 当 hnRNP E1 从该结构元件释放则会促进 *PNUTS* 选择性剪接产生 lncRNA-*PNUTS* (NR_072994.1). lncRNA-*PNUTS* 进入细胞后可以吸附 miR-205 从而促进 EMT 标志基因, 即 miR-205 靶基因 ZEB 的表达^[34]. *PNUTS* 通过选择性剪接产生 *PNUTS* mRNA 和 lncRNA-*PNUTS*, 这 2 个剪接异构体具有不同的生物学功能.

这些新发现的肿瘤相关 lncRNA 的异常剪接现象及其生物学作用给肿瘤研究带来了新的机遇与挑战, 也成为肿瘤临床诊断和治疗面临的新课题.

2.2 其他疾病中的 lncRNA 选择性剪接

lncRNA 在胎盘的形成功能方面发挥着重要作用. *H19* 是一种在哺乳动物胚胎时期高表达的胎盘组织特异性 lncRNA^[35-37], 与人类胚胎滋养层细胞增殖、胎盘发育^[38-39] 及胎儿生长的调节有关^[22, 40]. *H19* 表达异常可能会导致早发型子痫前期及胎儿发育迟缓^[22-24]. 在怀孕期间, *IGF2* 循环生长因子能够促进胎盘及胎儿的生长, *AC132217.4* 能够影响 3' UTR 区域及增强子的表达水平, 增加 mRNA 的稳定性及提高 *IGF2* 循环生长因子的表达水平^[25]. *RP11-440I14.3* 位于羟基前列腺素脱氢酶 (HPGD) 的顺式位置, 能够抑制前列素 E2 (PGE2) 和前列素 D2 (PGD2) 的活性, 从而影响生殖、分化等生物学过程^[26]. 在子宫中, 前列腺素与感染引起的妊娠停止紧密相关. Majewska 等^[27] 在人足月胎盘中进行 lncRNA 表达谱的研究, 发现在所有选择性剪接调节中, *H19*、*AC132217.4*、*RP11-440I14.3* 和 *AC005154.6* 的外显子具有显著的性别差异. 在女性胎盘中发现, *H19* 第 27 号外显子表达出现上调的现象, 此外还有

RP11-440I14.3 的第 5 号和 7 号外显子的可变表达. 在男性胎盘中, *AC132217.4* 第 15 号外显子和 *AC005154.6* 的第 13 号外显子表达水平出现上调现象. 因此, 胎盘中所检测到的这些 lncRNA 的选择性剪接, 其功能与胎盘和胚胎发育相关, 需要进一步研究 lncRNA 的表达谱是否会影响正常或病理性的妊娠过程.

lncRNAs 的转录后加工过程显示, lncRNAs 还可以作为 miRNA 的一种来源. Rogler 等^[18] 发现 miRNAs (*RMRP-S1* 和 *RMRP-S2*) 来源于线粒体 RNA 处理核糖核酸内切酶 (RNase MRP) 组成的 268 nt 的 lncRNAs. RNase MRP 的点突变可引起软骨毛发发育缺陷病, 令人惊讶的是与疾病发生相关的点突变都位于 *RMRP-S1* 和 *S2* 上, miRNAs 的二级结构因这些点突变的发生而产生变化. 与正常对照相比, 软骨毛发发育缺陷患者的成纤维细胞和 B 细胞中 *RMRP-S1* 和 *S2* 的表达量明显降低. Pathway 分析确定受 *RMRP-S1* 和 *S2* 调控的基因与大多数的软骨毛发发育缺陷患者表型连锁, 而且显著富集在骨骼肌发育、毛发发育、造血细胞分化等通路中. *RMRP-S1* 和 *S2* 通过对靶基因的调控, 参与选择性 RNA 剪接、细胞增殖和分化. 因此, lncRNA 可通过自身选择性剪接产生 miRNAs 参与到疾病发生的分子机制中.

Mills 等^[15] 在对 16 个人体组织的 RNA-seq 数据集 (SRA091951、SRA512485、SRA602249) 进行分析的过程中发现, *linc00320* 含有 3 种剪接变体 (*linc00320-002*、*linc00320-006* 和 *linc00320-007*). 每个 *linc00320* 剪接变体均保留相同的 5' 端和 3' 端的外显子, 而 *linc00320-002* 却保留了独特的第 2 外显子. 在多系统萎缩症大脑的白质中, 以剪接变体 *linc00320-002* 的表达量为主, 且该剪接变体在白质中的表达水平显著高于灰质中的表达水平. 与正常大脑相比, 无论是灰质还是白质组织中, 多系统萎缩症患者大脑中 *linc00320-002* 的表达水平均出现显著提高的现象, 另外 2 种剪接变体 (*linc00320-006* 和 *linc00320-007*) 的表达并没有发现出任何差异^[15]. *linc00320-002* 很可能参与多系统萎缩症的发生机制, 且是组织分化的重要影响因素. 在 *linc00320* 的剪接变体中, 第 2 外显子的保留是 *linc00320-002* 剪接变体区别于另外 2 种剪接变体的主要特征, 由此可见, lncRNA 的选择性剪接可以直接影响疾病的发生过程.

另外，Bavarva 等^[17]发现尼古丁暴露组的上皮细胞与正常组上皮细胞（MCF-10A）相比较，lncRNA *NEAT1*（Hs01008264_s1）的表达水平显著下降，且出现选择性剪接的现象。该现象表明，尼古丁暴露很可能是导致 *NEAT1* 出现选择性剪接的重要原因。

综上所述，lncRNA 的选择性剪接与胚胎发育、软骨毛发发育、多系统萎缩症等紧密相关，且极可能受尼古丁暴露等环境因素的影响。

3 lncRNA选择性剪接数据库的比较

基于对 lncRNA 选择性剪接的研究，目前主要

有 Nitsche 等^[8]提供的公共网络服务 SpliceMap（<http://splice.map.bioinf.uni-leipzig.de>）及 Gong 等^[41]提供的 LNCediting 数据库（<http://bioinfo.life.hust.edu.cn/LNCediting/>）（表2）。

SpliceMap 于2012年创建完成，一共包括543个剪接位点，跨域人类、黑猩猩、苏门达腊猩猩、小鼠、大鼠、牛、马、犬六个物种，可以做关于 lncRNA 选择性剪接的研究，允许检索多组直系同源剪接位点，对于给定基因组间隔或一组单独的剪接位点，SpliceMap 数据库可用于产生进化保守剪接位点的概览图。

Table 2 Feature comparison between SpliceMap and LNCediting database
表2 SpliceMap和LNCediting数据库的特征比较

lncRNA	SpliceMap	LNCediting
收录物种	人类、黑猩猩、苏门达腊猩猩、小鼠、大鼠、牛、马、犬	人类、小鼠、恒河猴、果蝇
lncRNA数目	543剪接位点	191 991个RNA编辑位点
数据类型	基因组和转录组剪接位点的数据	lncRNA转录本中的RNA编辑位点数据
特异性	有	无
定制工具	无	有（预测RNA编辑位点分别对lncRNA结构和miRNA-lncRNA相互作用的影响）
研究内容	对进化保守剪接位点进行比较（低水平序列守恒）	RNA编辑在lncRNA中的功能效应数据库
结果	形成概览图	不形成概览图

LNCediting 数据库于2016年创建，一共包括了191 991个RNA编辑位点，可以为人类、小鼠、恒河猴和果蝇的 lncRNA 的RNA编辑功能预测提供全面的资源。LNCediting 数据库通过 lncRNA 编辑位点的结构变化和可能受编辑位点影响的 lncRNA-miRNA 的结合位点来预测 lncRNA 中选择性剪接的功能效应^[41]。用户可以通过 LNCediting 数据库浏览或搜索，lncRNAs 中的编辑位点、编辑站点对 RNA 二级结构的影响、影响 lncRNA -miRNA 相互作用的编辑位点（丢失或增加）、miRNA 表达数据以确定功能编辑站点的优先级、预测 lncRNAs 中特定编辑位点的功能。

SpliceMap 较 LNCediting 数据库创建的早，且收录的物种较全面，可制作基因组和转录组数据剪接位点的比较图，并利用 MaxEntScan 评分来评估剪接位点的守恒率。预测蛋白质编码剪接位点的保守性表明了该方法的特异性且剪接位点的保守性，为保守的 lncRNAs 数量提供了下限值。而

LNCediting 数据库则是通过收集 lncRNA 转录本中的 RNA 编辑位点数据，使用两种定制工具（预测 RNA 编辑位点分别对 lncRNA 结构以及 miRNA-lncRNA 相互作用的影响）来预测 RNA 编辑在 lncRNA 中的功能效应。这两个 lncRNA 选择性剪接数据库是根据不同层面创建的，SpliceMap 主要用于查询，而 LNCediting 则主要用于功能预测。所以，两者具有不同的研究用途。

4 展 望

前体 mRNA 经过剪接之后，除了会产生成熟且具有编码功能的 mRNA 之外，同时还会产生 lncRNA、miRNA 等非编码 RNA。其中 lncRNA 在结构上与 mRNA 具有一定的相似性，并且可以与 DNA、RNA 和蛋白质相互作用，参与多种生物学过程的调控。研究表明，lncRNA 能够参与表观遗传模式调控及染色质重塑，参与及调节不同 RNA 相关酶复合物的作用而发挥功能^[42]。lncRNA 通过

选择性剪接机制,产生不同的产物,从而发挥特定的生理学效应,对疾病的发生发展产生影响.但相对于mRNA选择性剪接,lncRNA在这方面的研究较为匮乏.比如,sno-lncRNA是一类新型的lncRNA,它们的序列中包含完整的snoRNA序列,并且该序列对sno-lncRNA的稳定性和亚细胞定位至关重要^[43],但对于这类新型的lncRNA相关的选择性剪接机制研究却不多.总而言之,lncRNA上的选择性剪接事件的发生,受众多因素的调控及影响,构建完善的lncRNA选择性剪接调控网络,是研究选择性剪接调控机制的有效途径,而构建相关数据库将有效节约研究资本及推进研究进展.

参 考 文 献

- [1] Wilusz J E, Sunwoo H, Spector D L. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. *Genes & Development*, 2009, **23**(13): 1494-1504
- [2] Zhou J, Yang L, Zhong T, *et al.* H19 lncRNA alters DNA methylation genome wide by regulating S-adenosylhomocysteine hydrolase. *Nature Communications*, 2015, **6**: 10221
- [3] Ding G, Li W, Liu J, *et al.* LncRNA GHET1 activated by H3K27 acetylation promotes cell tumorigenesis through regulating ATF1 in hepatocellular carcinoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, **94**: 326-331
- [4] Liu J Y, Yao J, Li X M, *et al.* Pathogenic role of lncRNA-MALAT1 in endothelial cell dysfunction in diabetes mellitus. *Cell Death & Disease*, 2014, **5**: e1506
- [5] Pavlaki I, Alammari F, Sun B, *et al.* The long non-coding RNA paupar promotes KAP1-dependent chromatin changes and regulates olfactory bulb neurogenesis. *The EMBO Journal*, 2018, **37**(10), pii: e98219. doi: 10.15252/embj.201798219
- [6] Loewen G, Jayawickramarajah J, Zhuo Y, *et al.* Functions of lncRNA HOTAIR in lung cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, 2014, **7**: 90
- [7] Yan F, Wang X, Zeng Y. 3D genomic regulation of lncRNA and Xist in X chromosome. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2018
- [8] Nitsche A, Rose D, Fasold M, *et al.* Comparison of splice sites reveals that long noncoding RNAs are evolutionarily well conserved. *Rna*, 2015, **21**(5): 801-812
- [9] Haerty W, Ponting C P. Unexpected selection to retain high GC content and splicing enhancers within exons of multiexonic lncRNA loci. *Rna*, 2015, **21**(3): 333-346
- [10] Bradley R K, Merkin J, Lambert N J, *et al.* Alternative splicing of RNA triplets is often regulated and accelerates proteome evolution. *Plos Biology*, 2012, **10**(1): e1001229
- [11] Maugeri A, Van Driel M A, Van De Pol D J, *et al.* The 2588G-->C mutation in the ABCR gene is a mild frequent founder mutation in the Western European population and allows the classification of ABCR mutations in patients with Stargardt disease. *American Journal of Human Genetics*, 1999, **64**(4): 1024-1035
- [12] Hui L, Zhang X, Wu X, *et al.* Identification of alternatively spliced mRNA variants related to cancers by genome-wide ESTs alignment. *Oncogene*, 2004, **23**(17): 3013-3023
- [13] Shi Y, Sha G, Sun X. Genome-wide study of NAGNAG alternative splicing in *Arabidopsis*. *Planta*, 2014, **239**(1): 127-138
- [14] Sun X, Lin S M, Yan X. Computational evidence of NAGNAG alternative splicing in human large intergenic noncoding RNA. *BioMed Research International*, 2014, **2014**: 736798
- [15] Mills J D, Chen J, Kim W S, *et al.* Long intervening non-coding RNA 00320 is human brain-specific and highly expressed in the cortical white matter. *Neurogenetics*, 2015, **16**(3): 201-213
- [16] Mazar J, Rosado A, Shelley J, *et al.* The long non-coding RNA GAS5 differentially regulates cell cycle arrest and apoptosis through activation of BRCA1 and p53 in human neuroblastoma. *Oncotarget*, 2017, **8**(4): 6589-6607
- [17] Bavarva J H, Tae H, Settlege R E, *et al.* Characterizing the genetic basis for nicotine induced cancer development: a transcriptome sequencing study. *Plos One*, 2013, **8**(6): e67252
- [18] Rogler L E, Kosmyna B, Moskowitz D, *et al.* Small RNAs derived from lncRNA RNase MRP have gene-silencing activity relevant to human cartilage-hair hypoplasia. *Human Molecular Genetics*, 2014, **23**(2): 368-382
- [19] Yuan J H, Liu X N, Wang T T, *et al.* The MBNL3 splicing factor promotes hepatocellular carcinoma by increasing PXN expression through the alternative splicing of lncRNA-PXN-AS1. *Nature Cell Biology*, 2017, **19**(7): 820-832
- [20] Xue M, Chen W, Xiang A, *et al.* Hypoxic exosomes facilitate bladder tumor growth and development through transferring long non-coding RNA-UCA1. *Molecular Cancer*, 2017, **16**(1): 143
- [21] Graham L D, Pedersen S K, Brown G S, *et al.* Colorectal neoplasia differentially expressed (CRNDE), a novel gene with elevated expression in colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Genes & Cancer*, 2011, **2**(8): 829-840
- [22] Yu L, Chen M, Zhao D, *et al.* The H19 gene imprinting in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Placenta*, 2009, **30**(5): 443-447
- [23] Zuckerwise L, Li J, Lu L, *et al.* H19 long noncoding RNA alters trophoblast cell migration and invasion by regulating TbetaR3 in placentae with fetal growth restriction. *Oncotarget*, 2016, **7**(25): 38398-38407
- [24] Ying W, Jingli F, Wei S W, *et al.* Genomic imprinting status of IGF-II and H19 in placentas of fetal growth restriction patients. *Journal of Genetics*, 2010, **89**(2): 213-216
- [25] Li X, Ma C, Zhang L, *et al.* LncRNAAC132217.4, a KLF8-regulated long non-coding RNA, facilitates oral squamous cell carcinoma metastasis by upregulating IGF2 expression. *Cancer Letters*, 2017, **407**: 45-56
- [26] Aisemberg J, Bariani M V, Vercelli C A, *et al.* Lipopolysaccharide-induced murine embryonic resorption involves nitric oxide-mediated inhibition of the NAD⁺-dependent 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase. *Reproduction*, 2012,

- 144(4):447-454
- [27] Majewska M, Lipka A, Pauksztó L, *et al.* Preliminary RNA-seq analysis of long non-coding RNAs expressed in human term placenta. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, **19**(7), pii: E1894. doi: 10.3390/ijms19071894
- [28] 王宇, 陈葳, 王帆, 等. lncRNA-UCA1 不同剪接变体在膀胱癌中的作用研究. 中华医学会第九次全国检验医学学术会议暨中国医院协会临床检验管理专业委员会第六届全国临床检验实验室管理学术会议, 2011, 中国北京.
- Wang Y, Chen W, Wang F, *et al.* The 9th National Laboratory Medicine Academic Conference of the Chinese Medical Association and the 6th National Laboratory Management Academic Conference of the Clinical Laboratory Management Committee of the Chinese Hospital Association, 2011, Beijing, China
- [29] Khalil A M, Guttman M, Huarte M, *et al.* Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(28): 11667-11672
- [30] Furney S J, Pedersen M, Gentien D, *et al.* SF3B1 mutations are associated with alternative splicing in uveal melanoma. *Cancer Discovery*, 2013, **3**(10): 1122-1129
- [31] Smith C M, Steitz J A. Classification of gas5 as a multi-small-nucleolar-RNA (snoRNA) host gene and a member of the 5'-terminal oligopyrimidine gene family reveals common features of snoRNA host genes. *Molecular and Cellular Biology*, 1998, **18**(12): 6897-6909
- [32] Ye K, Wang S, Zhang H, *et al.* Long noncoding RNA GAS5 suppresses cell growth and epithelial-mesenchymal transition in osteosarcoma by regulating the miR-221/ARHI pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2017, **118**(12): 4772-4781
- [33] Renganathan A, Kresoja-Rakic J, Echeverry N, *et al.* GAS5 long non-coding RNA in malignant pleural mesothelioma. *Molecular Cancer*, 2014, **13**:119
- [34] Grelet S, Link L A, Howley B, *et al.* A regulated PNUTS mRNA to lncRNA splice switch mediates EMT and tumour progression. *Nature Cell Biology*, 2017, **19**(9): 1105-1115
- [35] Keniry A, Oxley D, Monnier P, *et al.* The H19 lincRNA is a developmental reservoir of miR-675 that suppresses growth and Igf1r. *Nature Cell Biology*, 2012, **14**(7): 659-665
- [36] Saben J, Zhong Y, McKelvey S, *et al.* A comprehensive analysis of the human placenta transcriptome. *Placenta*, 2014, **35**(2): 125-131
- [37] Taylor D H, Chu E T, Spektor R, *et al.* Long non-coding RNA regulation of reproduction and development. *Molecular Reproduction and Development*, 2015, **82**(12): 932-956
- [38] Gao W L, Liu M, Yang Y, *et al.* The imprinted H19 gene regulates human placental trophoblast cell proliferation via encoding miR-675 that targets Nodal Modulator 1 (NOMO1). *RNA Biology*, 2012, **9**(7): 1002-1010
- [39] Song X, Luo X, Gao Q, *et al.* Dysregulation of lncRNAs in placenta and pathogenesis of preeclampsia. *Current Drug Targets*, 2017, **18**(10): 1165-1170
- [40] Giabiconi E, Brioude F, Le Bouc Y, *et al.* Imprinted disorders and growth. *Annales d'Endocrinologie*, 2017, **78**(2): 112-113
- [41] Gong J, Liu C, Liu W, *et al.* LNCediting: a database for functional effects of RNA editing in lncRNAs. *Nucleic Acids Research*, 2017, **45**(D1): D79-D84
- [42] Bardou F, Ariel F, Simpson C G, *et al.* Long noncoding RNA modulates alternative splicing regulators in *Arabidopsis*. *Developmental Cell*, 2014, **30**(2): 166-176
- [43] Yin Q F, Yang L, Zhang Y, *et al.* Long noncoding RNAs with snoRNA ends. *Molecular Cell*, 2012, **48**(2): 219-230

Advances in Research on Alternative Splicing Regulation of LncRNA*

JI Hui-Hui¹⁾, ZHAO Yong-Jie²⁾, ZHENG Zhong-Hua¹⁾, DUAN Shi-Wei^{1)**}

¹⁾Laboratory of Pathophysiology, School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

²⁾Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Ürümqi 830054, China)

Abstract lncRNA alternative splicing refers to the process of cleavage of introns in immature lncRNA and ligation of exons to generate mature lncRNA. Abnormal alternative splicing plays an important role in the development and progression of various diseases. lncRNA alternative splicing is directly involved in the pathogenesis of bladder cancer, colorectal cancer, liver cancer, neuroblastoma, and other tumors, as well as embryonic development, cartilage hair development, and multiple system atrophy. Here, we reviewed the causes, regulatory mechanisms, and research advances in the effects of lncRNA alternative splicing. In addition, two databases related to lncRNA alternative splicing (SpliceMap and LNCediting) are described.

Key words lncRNA, alternative splicing, disease occurrence, isomer

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0240

* This work was supported by a grant from K.C.Wong Magna Fund in Ningbo University.

** Corresponding author.

Tel: 18858014376, E-mail: duanshiwei@nbu.edu.cn

Received: September 8, 2018 Accepted: November 12, 2018