

从长链非编码 RNA 角度探讨针灸治疗 IBD 的效应及调节机制

顾沐恩¹ 吴焕淦¹ 刘雅楠¹ 张琳珊¹ 刘慧荣¹ 赵继梦¹ 李晨² 李璟²

(1 上海中医药大学上海市针灸经络研究所,上海,200030; 2 江苏省徐州市中医院消化科,徐州,221000;

3 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院,上海,200437)

摘要 炎症性肠病(IBD)是病因和发病机制尚不明确的慢性炎症性疾病,包括克罗恩病(CD)和溃疡性结肠炎(UC)。针灸在治疗 IBD 上具有显著的疗效和优势,但其作用机制需深入研究和探讨。近年来研究发现 lncRNAs 广泛参与机体的生理病理过程,尤其是可通过基因调控介导机体的免疫炎症反应,与包括 IBD 在内的多种免疫性疾病都有密切关系。IBD 发生时有多种差异表达的 lncRNAs,其表达和功能的异常可在 IBD 炎症的发生发展中有重要作用。文章就 lncRNA 的功能及与 IBD 关系的研究进展进行了总结,并基于针灸对 IBD 的治疗作用,以期研究针灸能否通过调控相关 lncRNA 起到对 IBD 炎性反应的调节作用,从而为针灸治疗 IBD 的机制研究提供新的思路。

关键词 IBD;中医针灸;长链非编码 RNA;疗效机制;思考与展望

Discussing the Effective Mechanism of Acupuncture and Moxibustion in Inflammatory

Bowel Disease from Long Non-coding RNAs

Gu Muen¹, Wu Huangan¹, Liu Yanan¹, Zhang Linshan¹, Liu Huirong¹, Zhao Jimeng¹, Li Chen², Li Jing²

(1 Shanghai Research Institute of Acupuncture and Median, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200030, China; 2 Department of Gastroenterology; Xuzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine; Xuzhou 221000, China; 3 Department of Acupuncture, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China)

Abstract Inflammatory bowel disease (IBD), including crohn's disease and ulcerative colitis, are chronic inflammatory diseases with unclear etiology and pathogenesis. The effect of acupuncture and moxibustion on the treatment of IBD is curative and has significant advantages, but its mechanisms still need to be further studied. Studies in recent years found that lncRNAs widely involved in the physiological and pathological process of the body, especially mediating the immune inflammatory response through gene regulation, and have close relationship with variety autoimmune diseases that including IBD. A variety of lncRNAs differently expressed when IBD occurs, and the abnormal expression and function of lncRNAs play an important role in the development of IBD inflammation. In this article, the functions of lncRNA as well as research progress of its relationship with IBD are summarized, and then base on the treatment of acupuncture and moxibustion on IBD, we in order to study whether acupuncture and moxibustion regulate the inflammatory response of IBD through regulating related lncRNAs, which will provide new ideas for the research on the mechanism of acupuncture and moxibustion on the treatment of IBD.

Key Words Inflammatory bowel disease (IBD); Acupuncture and moxibustion; Long non-coding RNA; Effective mechanism; Thought and prospect

中图分类号:R245.3;R259 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.02.046

长链非编码 RNA (Long non-coding RNA, lncRNA) 是一类从基因组上转录而来的不编码蛋白质的长链 RNA, 在染色体沉默、染色质修饰、转录激活、转录干扰、核内运输等过程中有重要作用。炎症性肠病 (Inflammatory Bowel Diseases, IBD), 包括克

罗恩病 (Crohn's Disease, CD) 和溃疡性结肠炎 (Ulcerative Colitis, UC), 是非特异性慢性肠道炎症性疾病, 临床上主要表现为腹泻、腹痛, 可有黏液或脓血便。其病因和发病机制十分复杂, 肠道黏膜免疫异常反应所导致的炎性反应在 IBD 发病中起重要作

用。随着现代生命科学研究的发展,基因组学研究发现基因的多态性和表观遗传调控与 IBD 的发生发展有着密切关系^[1-2]。肠上皮黏膜屏障受损导致的肠道免疫失衡是引起 IBD 肠道炎症的关键因素,而 lncRNA 可调控相关的炎症反应基因以及炎症反应信号通路关键分子的转录,参与肠道炎症的发生发展。目前,针灸可通过影响多靶点和疾病过程的多个环节,在治疗 IBD 及免疫炎症调节上具有一定的作用,但其作用机制尚未完全阐明。因此,我们通过筛选与比较 IBD 的差异表达 lncRNAs,阐释 lncRNA 在针灸治疗 IBD 的免疫调节机制。

1 lncRNAs 与中医针灸

长链非编码 RNAs (long noncoding RNAs, lncRNAs) 转录本长度 200 nt ~ 100 kb, 可由 RNA 聚合酶转录产生, 主要位于细胞核内。lncRNAs 根据其基因组位置的不同分为正义 lncRNAs、反义 lncRNAs、双向 lncRNAs、内含子 lncRNAs 以及基因间 lncRNAs^[3]。lncRNAs 序列保守性较低, 曾认为 lncRNAs 是基因组转录过程中的垃圾副产物。晚近研究表明并非所有的 lncRNAs 都是转录噪声, 其部分参与调控细胞周期、细胞分化等生理过程, 在表观遗传修饰、转录水平、转录后加工及翻译水平等多个层面调控基因表达^[4-5]。此外, lncRNAs 具有不同的分子功能原型, 包括信号传导、诱导、指引和支架等, 这些 lncRNAs 功能原型可以为 lncRNA 如何捕获有用的蛋白作为生物传感器提供思路, 并可暗示它们可能的起源^[6]。lncRNA 曾被普遍认为不能编码任何蛋白质, 然而一些特异的 lncRNAs 可编码大量的微肽。在分析肌肉特异性的 lncRNAs 的功能时, 发现了一种在骨骼肌中特异性表达的 lncRNA, 这一 RNA 以往被归类为非编码 RNA, 但它的序列中包含的一小段却类似一个编码区域, 并编码了一个包含 46 个氨基酸的微肽, 称之为 myoregulin (MLN)^[7]。MLN 形成了在结构上与表达于心肌和慢收缩骨骼肌中的小蛋白 phospholamban (PLN) 和 sarcolipin (SLN) 相似的一种跨膜 α -螺旋。未来可能会发现有更多的 lncRNA 能编码小分子微肽。

lncRNA 的生物功能被探索与研究, 发现其功能和基因表达与临床疾病的表型密切关系, 在孟德尔疾病、癌症、心血管疾病、神经系统疾病、炎症性肠病等疾病的发生发展中具有重要作用^[8-9]。目前研究提示与 lncRNAs 相关的疾病约 166 种^[10]。全基因组关联性研究 (Genome-wide Association Studies, GWASs) 发现, 人类基因组中有大量与疾病表型相关

的单核苷酸多态性 (Genome-wide Association Studies, SNPs), 其中 217 种与疾病的表型相关的 SNPs 位于 162 个 lncRNAs 位点, 并与 112 种疾病表型相关联, 提示 lncRNAs 与疾病的发生关系密切^[11]。

lncRNA、miRNA 和 mRNA 之间构成复杂的网络, 相互促进或抑制, 也可形成复合物调节, 在系统生物学中具有重要的作用, 参与诸多的生物学功能。正常的机体功能是人体的基因有序表达的结果, 机体的复杂系统会通过不同网络之间的信息传递和整合, 使基因或其转录翻译产物蛋白质产生出最终的生物学功能, 而机体的病或证则源于 mRNA 表达的失衡^[12]。中医的整体观念运用阴阳五行学说解释生理、病理现象, 将阴阳的对立统一看成普遍存在的规律, 强调阴阳的平衡, 脏腑功能趋于调和。非编码 RNA 与 mRNA 之间的调节网络与中医的整体观念类似, 在病理状态下异常表达引起疾病, 而在生理状态下正常表达以维系着机体的动态平衡。

2 lncRNAs 与免疫炎症反应

lncRNAs 能调节炎症反应细胞因子的转录及转录后调控, 参与 toll 样受体 (Toll-like Receptor, TLR)、NOD 样受体等炎症反应相关信号通路的调节, 在机体的免疫应答及炎症反应中发挥重要作用^[13]。其中, lncDC 是第一个被识别的具有免疫细胞分化功能的 lncRNA, 它能通过抑制 SHP 引起的转录因子信号转导与转录激活因子 3 (Signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 脱磷酸化, 激活 STAT3, 调控树突状细胞的分化^[14]。研究还发现超过有 2 000 种 lncRNAs 可表达于 T 细胞, 调控 Th 细胞的特定基因编码蛋白, 并选择性的调节 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-5、IL-13 的表达^[15]。此外, lncRNAs 对固有免疫、适应性免疫、免疫细胞发展分化及自身免疫性疾病都具有调节作用, 系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、1 型糖尿病、多发性硬化、甲状腺炎、克罗恩病等多种自身免疫性疾病中存在 lncRNAs 的差异表达^[9], 进一步提示 lncRNA 可参与免疫炎症反应的发生发展。

目前已发现多种 lncRNAs 与免疫炎症反应的发生相关。lncRNA NEAT1 (Nuclear Enriched Abundant Transcript 1, NEAT1) 又称为病毒诱导的非编码 RNA VINC, 可通过诱导其相关联的核内旁斑蛋白剪接因子 (Splicing Factor Proline/glutamine-rich, SFPQ) 从 IL-8 启动子区域迁移到亚细胞核内旁斑内, 消除 SFPQ 对 IL-8 转录的抑制作用, 促进 IL-8 的转录激活和表达, 而沉默 NEAT1 的表达能抑制 TLR2 信号

活化诱导的 IL6、CXCL10、CCL2、CCL8 和 CXCL11 等下游晚期反应炎症反应因子的表达^[16-17]。LncRNA PACER 即 p50-associated COX-2 extragenic RNA, 它能与 NF- κ B 的抑制性亚基 p50 相结合, 潜在地促进 Cox2 启动区 NF- κ B p65/p50 二聚体的结合, 使 p300 组蛋白乙酰转移酶聚集, 组蛋白乙酰化和 RNA 聚合酶 II 起始复合物的聚集增加, 进一步诱导 Cox2 的表达, 引发炎症反应^[18]。lincRNA-Cox2 也是一种参与 NF- κ B 转录激活的早期原发性炎症反应基因。当细菌脂多糖 LPS 刺激巨噬细胞后, lincRNA-Cox2 与 SWI/SNF 结合形成 lincRNA-Cox2/SWI/SNF 复合体, 并调节 NF- κ B 亚基结合到 SWI/SNF 复合体, 引起巨噬细胞炎症反应基因 SWI/SNF 相关的染色质的重塑和反式激活, 调控 LPS 诱导的炎症反应^[19]。LncRNA THRIL 则是一种 TNF- α 与异构核 L 核糖核蛋白 (heterogenous nuclear Ribonucleoprotein L, hnRNPL) 关联的免疫调节性 LincRNA, 位于编码 BRI3 结合蛋白基因的下游。THP-1 巨噬细胞经激活后, lncRNAs 中差异表达较明显的 THRIL 可与 hnRNPL 结合, 形成 THRIL - hnRNPL 复合体, 通过与 TNF- α 启动子区域结合调节 TNF- α 基因的转录, 并参与转录后调控, 其表达与急性炎症性疾病的严重程度相关^[20]。

另外, 也有一些 lncRNAs 可抑制炎症反应。lncRNA Lethe 是由前炎症反应因子通过 NF- κ B 或糖皮质激素受体激动剂诱导产生的假基因 lncRNA, 它能与 NF- κ B 的亚单位 RelA 结合, 抑制 RelA DNA 结合和靶基因的激活, 负反馈调节 NF- κ B 信号通路, 抑制由 TNF- α 诱发的炎症反应^[21]。Lnc-IL7R 是一种经 LPS 诱导产生的 lnc RNA, 它与人 IL-7R 基因的 3'非编码区域 (3'UTR) 重叠, 可通过调节炎症反应递质近端启动子的组蛋白 H3 第 27 个氨基酸上三甲基化 (Histone 3 Lysine 27 Trimethylation, H3K27me3) 修饰, 抑制 LPS 诱导的炎症反应, LPS 诱导产生的 E-selectin、VCAM-1、IL-6、IL-8 在 lnc-IL7R 基因敲除细胞中呈现高表达^[22]。lincRNA-EPS 则在巨噬细胞中调控免疫应答基因 IRGs 的表达, 它定位在 IRGs 的调控区域, 与 hnRNPL 相互作用, 控制核小体定位并抑制其转录, 调节炎症反应, 实验也证实 lincRNA-ERS 敲除小鼠在受到内毒素攻击后炎症反应明显增强^[23]。综上, 参与免疫炎症反应调节的 lncRNAs。见表 1。

综上所述, lncRNA 参与免疫炎症反应的调节, 或可从 lncRNA 的角度阐释炎症性肠病的发病机制。

针灸能调节免疫炎症反应因子的表达, 具有抗炎免疫的作用^[24]。将强调中医整体观念的针灸疗法与系统生物学中的转录组学相结合, 或可从整体水平揭示针灸治疗溃疡性结肠炎和克罗恩病的效应及调控机制。

表 1 参与免疫炎症反应调节的 lncRNAs

lncRNA 名称	功能	作用机制
LncDC	促进 DC 分化	促进 STAT3 磷酸化, 激活 STAT3 ^[13]
NEAT1	促进炎症反应	促进 IL-8 的转录激活及 IL-8 的表达; 调节 TLR2 信号活化诱导的下游炎症反应因子的表达 ^[16-17]
PACER	促进炎症反应	结合 NF- κ B 抑制性转录因子 p50, 诱导 Cox2 的表达 ^[18]
lincRNA-Cox2	促进炎症反应	参与 NF- κ B 转录, 诱导巨噬细胞炎症反应基因 SWI/SNF 相关的染色质的重塑和反式激活 ^[19]
THRIL	促进炎症反应	THRIL - hnRNPL 复合体与 TNF- α 启动子区域结合, 调节 TNF- α 基因的转录和转录后调控 ^[20]
Lethe	抑制炎症反应	负反馈调节 NF- κ B 信号通路, 抑制 TNF- α 诱发的炎症反应 ^[21]
Lnc-IL7R	抑制炎症反应	调节炎症递质近端启动子 H3K27me3 修饰, 抑制 LPS 诱导的炎症反应 ^[22]
lincRNA-EPS	抑制炎症反应	调控 IRGs 的表达, 控制核小体定位并抑制其转录 ^[23]

3 lncRNAs 与炎症性肠病

基因多态性等遗传因素在 IBD 的发生中占有重要地位, 如 TLR4 rs4986790A > G 和 rs4986791C > T 基因多态性可增加患 IBD 的风险, 并与 IBD 的发病机制有一定关系^[1]; 基因的差异表达也在 IBD 的发病过程中有重要作用^[25]。基因 IL-10 启动子 KAT2B 和 H4K5ac 的富集率减少可导致转录沉默, 影响先天和适应性免疫应答, 使 IL-10 在 IBD 的结肠炎症组织中表达减少, 体现了 IBD 中关键抑炎因子 IL-10 失调的表观遗传修饰机制^[2]。人体组织中可映射到大量 IBD 位点相关 lncRNAs 的表达, 距 1231 个 IBD 候选基因 5 kb 的上下游区域内或周围有 4272 个 lncRNAs^[26]。与 IBD 主要相关的 lncRNAs, 如: RP11-324I22. 2、AC074391. 1、AC012370. 2、BSN-AS1 与 IBD 相关; 其中 CTC-349C3. 1 与 UC 相关, 且与 IBD 相关的 IL21/IL21-AS1 位点包含了 lncRNA IL21-AS1, 其在 Th1 细胞与 IL-21 呈现共表达。lncRNA 的功能或免疫细胞的特异性表达影响 IBD 的发生发展^[27]。

CD 患者较正常人表达上调了 1211 种 lncRNAs, 下调了 777 种。其中上调倍数变化较显著的有

GUSBP2, RP5-968D22.1、RP11-68L1.2、RP11-428F8.2、GAS5-AS1, 下调倍数变化较显著的有 AF113016、ALOX12P2、AGSK1、CTC-338M12.3、AC064871.3^[28]。lncRNA DQ786243 与 CD 的严重程度相关,通过促 CREB 的磷酸化影响 CREB 和 Foxp3 的表达,调节 Treg 的功能^[29]。CD 患者结肠黏膜组织 lncRNA 与正常人相比,lncRNAs 表达有 254 种上调,184 种下调,主要有 RP11-731 F5.2、MMP12、RP11-465 L10.10、RP11-44 K6.2 表达上调,而主要有 DPP10-AS1、PDZK1P2、DIO3OS、ANRIL (CDKN2B-AS1) 下调,这些差异表达的 lncRNAs 可能成为 CD 诊断与治疗的生物学标记^[30]。

UC 患者较正常人结肠组织有 370 种 lncRNAs 表达上调,主要有 RP11-44 K6.2、MMP12、RP11-465 L10.10、KIF9-AS1;375 种下调,主要有 ANRIL (CDKN2B-AS1)、PDZK1P2、DPP10-AS1 等^[30]。通 UC 活动期患者结肠组织较对照者有 1961 中差异表达 lncRNAs,UC 活动期较非活动期有 1361 种差异表达 lncRNAs,UC 非活动期较对照者有 287 种差异表达 lncRNAs,经筛选发现 lncRNA IFNG-AS1 的表达差异最明显,且与 IBD 易感基因位点 SNP rs7134599 相关,其位置与炎性反应细胞因子 IFNG 邻近,上游调节因子 IFNG、IL-1、IL-6、TNF- α 、IL-1 β 在 IFNG-AS1 高表达的结肠组织中被激活;动物实验小鼠 UC 结肠组织 lncRNA IFNG-AS1 的表达升高,并正向的调节 IFNG 的表达,说明 IFNG-AS1 可能通过调节关键炎性反应细胞因子 IFNG 的水平在 UC 炎性反应中起到重要作用^[31]。H19 过表达致对肠上皮屏障功能的破坏,H19 过表达可能是减少表达的 VDR 在 UC 结肠组织中的机制之一,H19 和 VDR 信号之间的相互作用可能提供 UC 的潜在治疗目标^[32]。Myc 相关锌指蛋白调节 DSS 诱导的 UC 结肠上皮紧密连接 (TJ) 蛋白 ZO-1 和闭合蛋白 Occludin,而 miR-34c 靶向 MAZ 调节其表达,此外,PlncRNA1 和 miR-34c 结合在一起调节 MAZ,ZO-1 和 Occludin 的表达。PlncRNA1 过表达对肠上皮屏障功能的保护作用被 miR-34c 的过表达逆转,协同调节肠功能障碍^[33]。活动期 UC 患者乙状结肠组织中,有 329 种 lncRNAs 上调,126 种 lncRNAs 下调,其中上调最显著有 BC012900、AK001903、AK023330,下调最显著有 BC029135、CDKN2B-AS1 和 BC062296,筛选出来的 BC012900 存在于结肠上皮和固有层细胞核内,采用 IL-1 β 、TNF- α 以及病原体相关的分子模式 (Pathogen-associated Molecular Patterns, PAMPs) HKLM

(TLR2 ligand)、LPS (TLR4 ligand)、ST-FLA (TLR5 ligand)、ODN2006 (TLR9 ligand)、MDP (NOD2 agonist) 等炎性反应因子刺激结肠上皮细胞后 BC012900 表达可增加;其位于 DUSP4 的下游,两者由相同的启动区域调节,但转录形式和功能不同;BC012900 在结肠上皮细胞的过表达显著抑制了细胞增殖,增加了细胞凋亡的易感性,这可能是 lncRNA 参与 UC 肠道炎性反应的关键环节,有望成为 UC 诊断和治疗的新靶点^[34]。

综上所述,lncRNA 与 IBD 的发病密切相关。课题组前期关于 miRNAs 和 mRNA 研究,发现运用整体观念的中医针灸疗法能影响炎症性肠病结肠组织差异 mRNAs 及 miRNAs 的表达,可能是通过影响 miRNA 与 mRNA 调控网络发挥作用的^[35-37];也能影响正常大鼠结肠组织及心肌组织的 mRNA 表达谱^[38-39]。随着表观遗传修饰研究进展,采用高通量测序及生物信息学分析的技术与方法,结合 lncRNAs 或有助于深入针灸治疗溃疡性结肠炎、克罗恩病的效应机制的研究。

4 lncRNAs 与针灸治疗 IBD 作用机制相结合研究的思考

IBD 明确的病因和发病机制尚不清楚,目前认为遗传易感性、表观遗传修饰、免疫因素、感染、环境因素是引起慢性肠道炎症的原因^[40]。从细胞水平和现代分子水平研究,发现针灸治疗 IBD 的主要通过抗炎免疫发挥作用的,表观遗传修饰可能参与针灸抗炎免疫的调节^[40-42]。lncRNA 是非编码的一部分,也属于表观遗传修饰的一种。

本课题组前期研究根据 IBD 的发病特点,提出“艾灸温养脾胃,调和肠腑气血”的学术观点,选气海、足三里、天枢、大肠俞、上巨虚等采用针灸治疗,对 CD 和 UC 均治疗有效^[43-46]。针灸对 IBD 的效应机制通过 UC 和 CD 大鼠的动物实验研究,选气海、天枢穴,采用针刺和/或艾灸的干预方法,阐明了针灸对 IBD 的抗炎免疫调节作用。艾灸可抑制血清 IL-8 水平及结肠 NF- κ B p65 和 TLR-9 蛋白的表达,上调抑炎因子 IL-10 的水平,下调 UC 结肠组织 IL-8 及 ICAM-1 mRNA 的表达,改善炎性反应,减轻 UC 小鼠结肠黏膜损伤,起到治疗作用^[47-48];隔药灸还能调节 UC 大鼠结肠 TLR/NF- κ B 信号通路中的关键细胞因子蛋白如 TLR2、NF- κ B、IFN- β 等的表达,促进 UC 结肠损伤黏膜的修复^[49]。针灸治疗 CD 的研究中,隔药灸可降低靶器官结肠黏膜中的炎性反应因子 TNF- α 、TNFR1、SP、NK-1R、MCP-1、IL-8 的表达,

从而减轻肠道炎症,改善组织损伤,抑制肠上皮细胞凋亡,保护结肠上皮屏障,进而达到保护结肠的效应^[50-52];隔药灸和电针均可以降低 CD 大鼠结肠 IGF 家族及其受体 IGF-1、IGF-1R、IGFBP-5 等蛋白的表达,促进结肠组织结构与功能的恢复^[42]。隔药灸可下调 CD 模型大鼠结肠黏膜 IL-17、IL-23 mRNA 的表达,Treg 细胞特异性转录因子 Foxp3 mRNA 的表达^[54],缓解肠道炎症;隔药灸和电针均可下调 UC 大鼠结肠组织 IFN- γ 和 IL-12 mRNA 表达,上调 IL-4 和 IL-10 mRNA 表达,保持 Th1 和 Th2 细胞间平衡而改善免疫功能^[55];隔药灸也可降低 UC 大鼠结肠 TLR4 和 TNF- α 蛋白及其 mRNA 表达,控制其介导的炎症级联反应,以上初步阐释了针灸对 IBD 的抗炎免疫功能。但针灸的抗炎免疫调节作用是怎么发生的,缓解 IBD 的临床疗效是否受其他因素的影响,表观遗传修饰的非编码 RNA 中的 lncRNA 是否参与了针灸抗炎免疫的调节还需要进一步的探讨,该机制的阐明将有助于提高针灸的临床疗效。

lncRNA 是基因在转录过程中的表达产物之一,多种 lncRNA 能通过一系列调控作用对机体的免疫炎症性反应(包括 IBD 的发生发展)有重要作用,那么对 lncRNA 表达的调控也可能是针灸治疗 IBD 的关键机制。因此,可借鉴现代分子生物学研究方法,同时将其与针灸学相结合,运用基因芯片、高通量测序和生物信息学分析技术和方法,筛选 IBD 病理状态下差异表达的 lncRNAs 及针灸能有效逆转的 lncRNAs,以深入阐释 IBD 的发病机制与针灸治疗 IBD 的效应机制。这将从整体水平揭示 lncRNAs 在针灸对 IBD 疗效机制中的作用,有助于中医整体观念理论的补充,也有利于针灸学的现代研究有更高层次的发展。

5 思考与展望

非编码 RNA 在表观遗传调控中扮演了重要的角色^[56-57],lncRNA 作为非编码 RNA 的一种,其调控作用也逐渐引起人们广泛的关注。lncRNAs 表达或功能的异常可介导机体的免疫应答,促进或抑制炎症反应,IBD 中差异表达的 lncRNAs 也提示其在 IBD 的发生发展中有着重要作用。因此,深入探讨 lncRNAs 的功能及其在 IBD 中的免疫调控作用,可从表观遗传、转录后调控的角度开展研究,也可为 IBD 的临床诊断、靶向治疗等提供新方法。此外,结合整体观念和辨证论治,针灸临床采用温养脾胃,调和肠腑气血法治疗 IBD,其疗效肯定,应建立疗效评价体系,同时从 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络引入中

医整体观念,研究针灸调和阴阳及其抗炎免疫的作用机制。

另一方面,lncRNA 与 mRNA 均为基因转录后的产物,针灸可通过调控 IBD 相关细胞因子 mRNA 的表达,抑制肠道促炎细胞因子的释放,减轻炎症性肠病黏膜炎症性反应,调节机体免疫功能。那么针灸对 IBD 炎症的免疫调节作用是否受相关的 lncRNA 调控免疫炎症性反应因子的转录有关,值得深入研究。因此,我们将结合临床研究和动物实验,通过对 IBD 患者和健康者结肠黏膜 lncRNA 和 mRNA 表达谱进行筛选和比较。1)研究病理状态下结肠黏膜的差异 lncRNAs 和 mRNAs,采用生物信息学的方法分析 lncRNA 和 mRNA 的调控网络,拟揭示 IBD 结肠黏膜特异性 lncRNAs 和 mRNAs,为 IBD 的生物标志及临床靶向诊断和治疗提供科学依据;2)采用原位杂交和非编码 RNA 干扰的方式深入研究 IBD 特异性 lncRNA 调控 mRNA 的作用机制,拟阐释 IBD 的部分发病机制;3)在明确针灸治疗 IBD 有效的基础上,观察针灸对 IBD 特异性 lncRNA-mRNA 调节网络,拟明确针灸影响的结肠黏膜炎症相关 lncRNAs 对免疫炎症性反应因子调节机制,拟阐释中医针灸治疗 IBD 的部分效应机制,为针灸的临床应用提供科学的临床资料和理论依据。

将中医针灸学与现代分子生物学技术相结合必然可为针灸学发展提供广阔的前景。只有运用现代科学技术与手段,才能客观的阐释中医针灸学理论及其作用机制,充分发挥针灸在治疗 IBD 临床疗效方面的优势。这不仅有利于从基因调控方面揭示针灸对 IBD 的作用机制,也对针灸治疗 IBD 的基础及临床研究起到很大的推动作用。

参考文献

- [1] Ao R, Wang Y, Zhnag DR, et al. Role of TLR4 rs4986790A > G and rs4986791C > T Polymorphisms in the Risk of Inflammatory Bowel Disease[J]. Gastroenterol Res Pract, 2015, 2015: 141070.
- [2] Bai AH, Wu WK, Xu L, et al. Dysregulated Lysine Acetyltransferase 2B Promotes Inflammatory Bowel Disease Pathogenesis Through Transcriptional Repression of Interleukin-10[J]. J Crohns Colitis, 2016, 10(6): 726-734.
- [3] Ponting C, Oliver P, Reik W. Evolution and Functions of Long Non-coding RNAs[J]. Cell, 2009, 136(4): 629-641.
- [4] Wapinski O, Chang HY. Long noncoding RNAs and human disease [J]. Trends Cell Biol, 2011, 21(6): 354-361.
- [5] Liao Q, Liu C, Yuan X, et al. Large-scale prediction of long non-coding RNA functions in a coding-non-coding gene co-expression network [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39(9): 3864-3878.
- [6] Kevin C. Wang, Howard Y. Chang. Molecular mechanisms of long non-

- coding RNAs[J]. *Mol Cell*, 2011, 43(6):904-914.
- [7] Anderson DM, Anderson KM, Chang CL, et al. A micropeptide encoded by a putative long noncoding RNA regulates muscle performance [J]. *Cell*, 2015, 160(4):595-606.
- [8] Maass PG, Luft FC, Bähring S. Long non-coding RNA in health and disease[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92(4):337-346.
- [9] 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.
- [10] Chen G, Wang Z, Wang D, et al. LncRNA Disease: a database for long-non-coding RNA-associated diseases [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue):D983-986.
- [11] Ning S, Wang P, Ye J, et al. A global map for dissecting phenotypic variants in human lincRNAs[J]. *Eur J Hum Genet*, 2013, 21(10):1128-1133.
- [12] 沈自尹. 系统生物学和信息医学在中西医结合中的应用[J]. *中西医结合学报*, 2006, 4(2):111-113.
- [13] Carpenter S, Fitzgerald KA. Transcription of Inflammatory Genes: Long Noncoding RNA and Beyond[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2015, 35(2):79-88.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] Imamura K, Imamachi N, Akizuki G, et al. Long Noncoding RNA NEAT1-Dependent SFPQ Relocation from Promoter Region to Paraspeckle Mediates IL8 Expression upon Immune Stimuli [J]. *Mol Cell*, 2014, 53(3):393-406.
- [17] 张飞飞, 沈南, 唐元家. Lnc RNA NEAT1 参与 TLR2 介导的炎症因子的表达[J]. *现代免疫学*, 2015, 35(4):316-321.
- [18] Krawczyk M, Emerson BM. p50-associated COX-2 extragenic RNA (PACER) activates COX-2 gene expression by occluding repressive NF-kappaB complexes[J]. *Elife*, 2014, 3:e01776.
- [19] Hu G, Gong AY, Wang Y, et al. LincRNA-Cox2 Promotes Late Inflammatory Gene Transcription in Macrophages through Modulating SWI/SNF-Mediated Chromatin Remodeling [J]. *J Immunol*, 2016, 196(6):2799-2808.
- [20] Li Z, Chao TC, Chang KY, et al. The long noncoding RNA THRIL regulates TNF- α expression through its interaction with hnRNPL [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(3):1002-1007.
- [21] Rapicavoli N, Qu K, Zhang J. A mammalian pseudogene lncRNA at the interface of inflammation and anti-inflammatory therapeutics [J]. *eLife Science*, 2013, 2:e00762.
- [22] Cui H, Xie N, Tan Z, et al. The human long noncoding RNA lnc-IL7R regulates the inflammatory response [J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44(7):2085-2095.
- [23] Atianand MK, Hu W, Satpathy AT, et al. A Long Noncoding RNA lincRNA-EPS Acts as a Transcriptional Brake to Restrain Inflammation [J]. *Cell*, 2016, 165(7):1672-1685.
- [24] 吴焕淦, 翁志军, 刘慧荣, 等. 基于免疫相关性疾病的艾灸镇痛与抗炎免疫研究[J]. *世界中医药*, 2016, 11(12):2505-2514.
- [25] Van der Goten J, Vanhove W, Lemaire K, et al. Integrated miRNA and mRNA expression profiling in inflamed colon of patients with ulcerative colitis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12):e116117.
- [26] Mirza AH, Kaur S, Brorsson CA, et al. Effects of GWAS-Associated Genetic Variants on lncRNAs within IBD and T1D Candidate Loci [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e105723.
- [27] Hrdlickova B, Kumar V, Kanduri K, et al. Expression profiles of long non-coding RNAs located in autoimmune disease-associated regions reveal immune cell-type specificity [J]. *Genome Med*, 2014, 6(10):88.
- [28] Dong Chen, Jiang Liu, Hui-Ying Zhao, et al. Plasma long noncoding RNA expression profile identified by microarray in patients with Crohn's disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(19):4716-4731.
- [29] Qiao YQ, Huang ML, Xu AT, et al. LncRNA DQ786243 affects Treg related CREB and Foxp3 expression in Crohn's disease [J]. *J Biomed Sci*, 2013, 20:87.
- [30] Mirza AH, Berthelsen CH, Seemann SE, et al. Transcriptomic landscape of lncRNAs in inflammatory bowel disease [J]. *Genome Med*, 2015, 7(1):39.
- [31] Padua DM, Mahurkar-Joshi S, Law IK, et al. A long noncoding RNA signature for ulcerative colitis identifies IFNG-ASI as an enhancer of inflammation [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 311(3):G446-457.
- [32] Chen SW, Wang PY, Liu YC, et al. Effect of Long Noncoding RNA H19 Overexpression on Intestinal Barrier Function and Its Potential Role in the Pathogenesis of Ulcerative Colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(11):2582-2592.
- [33] Chen T, Xue H, Lin R, et al. MiR-34c and PlncRNA1 mediated the function of intestinal epithelial barrier by regulating tight junction proteins in inflammatory bowel disease [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017 Jan 30. pii: S0006-291X(17)30174-2. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.115.
- [34] Wu F, Huang Y, Dong F, et al. Ulcerative Colitis-Associated Long Noncoding RNA, BC012900, Regulates Intestinal Epithelial Cell Apoptosis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(4):782-795.
- [35] Wu Luyi, Huang Y, Wu Huangang, et al. Su1859 Alterations in microRNA Expression Profiles in Inflamed and Non-Inflamed Ascending Colon Mucosae of Adult Patients With Active Crohn's Disease [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4):S572.
- [36] Huang Y, Ma Z, Cui YH, et al. Effects of Herb-Partitioned Moxibustion on the miRNA Expression Profiles in Colon from Rats with DSS-Induced Ulcerative Colitis [J]. 2017, 2017:1767301.
- [37] Wei K, Zhang D, Hong J, et al. Herb-Partitioned Moxibustion and the miRNAs Related to Crohn's Disease: A Study Based on Rat Models [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015:265238.
- [38] 黄艳, 顾沐恩, 翁志军, 等. 逆灸“天枢”穴干预大鼠结肠组织基因表达谱的实验研究 [J]. *世界中医药*, 2016, 11(12):2549-2553.
- [39] Huang Y, Lu SF, Hu CJ, et al. Electro-acupuncture at Neiguan pretreatment alters genome-wide gene expressions and protects rat myo-

- cardium against ischemia-reperfusion [J]. *Molecules*, 19 (10): 16158-16178.
- [40] Venthram NT, Kennedy NA, Nimmo ER, et al. Beyond gene discovery in inflammatory bowel disease: the emerging role of epigenetics [J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(2): 293-308.
- [41] 黄艳, 窦传字, 黄任佳, 等. 从表观遗传修饰角度探讨艾灸对炎症性肠病的调控机制 [J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(2): 294-299.
- [42] 黄艳, 窦传字, 刘慧荣, 等. 表观遗传修饰与溃疡性结肠炎 [J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(7): 1099-1103.
- [43] Joos S, Wildau N, Kohnen R, et al. Acupuncture and moxibustion in the treatment of ulcerative colitis: a randomized controlled study [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2006, 41(9): 1056-1063.
- [44] Joos S, Brinkhaus B, Maluche C, et al. Acupuncture and moxibustion in the treatment of active Crohn's disease: a randomized controlled study [J]. *Digestion*, 2004, 69(3): 131-139.
- [45] Bao CH, Zhao JM, Liu HR, et al. Randomized controlled trial: moxibustion and acupuncture for the treatment of Crohn's disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(31): 11000-11011.
- [46] Xu YL, Du YH, Xu XM, et al. Observation on therapeutic effect of herb-partitioned spread moxibustion for treatment of chronic nonspecific ulcerative colitis [J]. *Chinese Acupuncture and Moxibustion*, 2010, 30(4): 289-291.
- [47] Han Y, Ma TM, Lu ML, et al. Role of moxibustion in inflammatory responses during treatment of rat ulcerative colitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(32): 11297-11304.
- [48] Zhou EH, Liu HR, Wu HG, et al. Down-regulation of protein and mRNA expression of IL-8 and ICAM-1 in colon tissue of ulcerative colitis patients by partition-herb moxibustion [J]. *Dig Dis Sci*, 2009, 54(10): 2198-2206.
- [49] Wang X, Liu Y, Dong H, et al. Herb-Partitioned Moxibustion Regulates the TLR2/NF- κ B Signaling Pathway in a Rat Model of Ulcerative Colitis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 949065.
- [50] Bao CH, Wu LY, Wu HG, et al. Moxibustion inhibits apoptosis and tumor necrosis factor- α /tumor necrosis factor receptor 1 in the colonic epithelium of Crohn's disease model rats [J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(9): 2286-2295.
- [51] 施征, 张慧, 王晓梅, 等. 艾灸对克罗恩病大鼠结肠黏膜 MCP-1 和 IL-8 蛋白表达的影响 [J]. *上海针灸杂志*, 2009, 28(9): 497-501.
- [52] 刘慧荣, 华雪桂, 施茵, 等. 针灸对克罗恩病大鼠 P 物质与神经激肽 1 受体表达的影响 [J]. *上海中医药大学学报*, 2005, 19(2): 48-51.
- [53] 马晓岚, 安彩萍, 吴焕淦, 等. 隔药灸和电针对克罗恩病大鼠结肠 IGF-1、IGF-IR、IGFBP-5 表达的影响 [J]. *上海针灸杂志*, 2008, 27(5): 37-40.
- [54] Weng ZJ, Wu LY, Lü TT, et al. Regulatory effects of herbal cake-partitioned moxibustion on the expressions of IL-17, IL-23 and their mRNAs in the colon of rats with Crohn's disease [J]. *J Acupunct Tuina Sci*, 2016, 14(3): 156-163.
- [55] 陈艳萍. 针灸对溃疡性结肠炎大鼠 Th1/Th2 免疫平衡的影响 [J]. *针刺研究*, 2016, 41(3): 210-214.
- [56] Agirre X, Martínez-Climent J, Otero MD, et al. Epigenetic regulation of miRNA genes in acute leukemia [J]. *Leukemia*, 2012, 26(3): 395-403.
- [57] Adefuin AM, Kimura A, Noguchi H, et al. Epigenetic mechanisms regulating differentiation of neural stem/precursor cells [J]. *Epigenomics*, 2014, 6(6): 637-649.

(2017-02-18 收稿 责任编辑: 洪志强)

(上接第 416 页)

- [7] 刘飞鹰, 董柏青, 王喜文, 等. 运用特尔菲法建立结核病防治效果综合评价指标体系 [J]. *中国卫生统计*, 2009, 26(1): 96-97.
- [8] 陈英耀, 倪明, 胡献之, 等. 公立医疗机构公益性评价指标筛选——基于德尔菲专家咨询法 [J]. *中国卫生政策研究*, 2012, 5(1): 6-10.
- [9] 关勋强, 李瑞兴, 刘运成. 医学研究生教育评价研究与实践 [M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2001: 113-118.
- [10] Zhang S, Li N, Liu M. Use of acupuncture for stroke in China [J]. *Acupunct Med*, 2009, 27(4): 146.
- [11] Liu M, Wu B, Wang W Z, et al. Stroke in China: epidemiology, prevention, and management strategies [J]. *Lancet Neurol*, 2007, 6(5): 456-464.
- [12] Shin B C, Lim H J, Lee M S. Effectiveness of combined acupuncture therapy and conventional treatment on shoulder range of motion and motor power in stroke patients with hemiplegic shoulder subluxation: a pilot study [J]. *Int J Neurosci*, 2007, 117(4): 519-523.
- [13] 于凌云, 于涛. 运用三维步态分析评价中医治疗偏瘫步态的疗效 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2010, 19(13): 1564-1566.
- [14] Lim S M, Yoo J, Lee E, et al. Acupuncture for spasticity after stroke: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 870398.
- [15] Kong J C, Lee M S, Shin B C, et al. Acupuncture for functional recovery after stroke: a systematic review of sham-controlled randomized clinical trials [J]. *CMAJ*, 2010, 182(16): 1723-1729.
- [16] Wu H. Acupuncture and stroke rehabilitation [J]. *CMAJ*, 2010, 182(16): 1711-1712.

(2016-11-06 收稿 责任编辑: 洪志强)