



Długie niekodujące RNA

jako czynniki modyfikujące odpowiedź alergiczną

Long non-coding RNA as modifiers of allergic response

SUMMARY

Long non-coding RNA (lncRNA) are regulatory RNAs, and the recent data indicate that they may play a role in the differentiation of dendritic cells and regulatory T cells as well as the activation of CD4+ cells, crucial in allergic response. Regulatory potential of lncRNAs in T cells differentiation and allergic immune response was observed in *in vitro* studies, and then confirmed in animal models and clinical studies including asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis. Regulatory potential of long non-coding RNAs may be used to develop new therapies of allergic diseases.

Długie niekodujące RNA (lncRNA) należą do regulatorowych RNA, a najnowsze badania wskazują, że odgrywają istotną rolę również regulacji różnicowania komórek dendrytycznych oraz limfocytów T regulatorowych, jak również aktywacji limfocytów CD4+, kluczowych w odpowiedzi alergicznej. Regulacyjną rolę lncRNA w różnicowaniu limfocytów T oraz odpowiedzi alergicznej zaobserwowano początkowo w badaniach *in vitro*, a następnie potwierdzono w badaniach na modelach zwierzęcych oraz szeregu badań klinicznych m.in. w astmie, alergicznym nieżyciu nosa oraz atopowym zapaleniu skóry. Potencjał regulacyjny długich niekodujących RNA stwarza możliwość ich wykorzystania do opracowania nowych terapii chorób alergicznych.

Szczepankiewicz A.: Długie niekodujące RNA jako czynniki modyfikujące odpowiedź alergiczną, 2019, 2: 41-42

W badaniach nad uwarunkowaniem chorób alergicznych oraz tych dotyczących poszukiwania biomarkerów w ostatnich latach dominują prace dotyczące cząsteczek regulatorowych, m.in. niekodujących RNA. Do tej pory zdecydowana większość prac dotyczyła badania roli małych niekodujących RNA (np. mikroRNA) w rozwoju chorób alergicznych, natomiast od niedawna zaczęły pojawiać się również doniesienia o roli długich niekodujących RNA jako potencjalnych czynnikach modyfikujących rozwój alergicznego stanu zapalnego.

Długie niekodujące RNA (lncRNA) są cząsteczkami o długości powyżej 200 nukleotydów [1], co odróżnia je od małych regulatorowych RNA. Cząsteczki te ulegają ekspresji w różnych tkankach i wykazują się mniej konserwowaną ewolucyjnie sekwencją w porównaniu do cząsteczek RNA kodujących białka, przez co bardziej elastycznie odpowiadają na zmieniające się warunki otoczenia. Poprzednie badania wykazały, że ekspresja tych RNA zmienia się w przebiegu procesu chorobowego [2, 3].

Najnowsze badania wykazały, że lncRNA odgrywają istotną rolę również regulacji różnicowania komórek dendrytycznych poprzez czynnik STAT3 oraz limfocytów T regulatorowych [4, 5], jak również aktywacji limfocytów CD4+ [6], kluczowych w odpowiedzi alergicznej.

Długie niekodujące RNA w regulacji odpowiedzi alergicznej

Regulacyjną rolę lncRNA w różnicowaniu limfocytów T oraz odpowiedzi alergicznej zaobserwowano początkowo

w badaniach *in vitro* [7]. W hodowli różnych populacji limfocytów T (dziewicznych CD4+, pamięci, jak również subpopulacji Th1, Th2, Th17 i T regulatorowych) wykazano, że cząsteczka lncRNA, GATA3-AS1, jest regulatorem różnicowania limfocytów Th2, a jej zwiększona ekspresja może być wykładnikiem chorób Th2-zależnych, w tym chorób alergicznych. Wyniki *in vitro* potwierdzono na limfocytach uzyskanych od pacjentów z alergicznym nieżyciem nosa uczulonych na pyłek brzozy, u których po stymulacji *ex vivo* alergenem Bet 1 zaobserwowano istotne zwiększenie ekspresji GATA3-AS1 w porównaniu do stymulowanych limfocytów T osób zdrowych. Co ciekawe, gen GATA3-AS1 ulega transkrypcji w kierunku przeciwnym w stosunku do promotora genu GATA3, czynnika transkrypcyjnego istotnego w różnicowaniu limfocytów Th2. Wykazano również, że ekspresja GATA3-AS1 wzrasta po stymulacji ekspresji IL-4, IL-13 oraz GATA3, natomiast jego wyciszenie zmniejsza ekspresję cytokin i czynnika GATA3 [8]. Zależność między GATA3-AS1 a GATA3 działa też w drugą stronę, ponieważ wyciszenie genu GATA3 wiąże się ze spadkiem ekspresji GATA3-AS1.

Inną cząsteczką lncRNA zaangażowaną w różnicowanie limfocytów Th2 oraz odpowiedź alergiczną jest NEAT1, związany ze szlakiem sygnałowym czynnika transkrypcyjnego STAT6, a jego ekspresja zwiększa ekspresję STAT6 oraz poziom limfocytów T CD4+ [9]. Ponadto wykazano, że wyciszenie STAT6 prowadzące do zmniejszenia ekspresji interleukin IL-4, IL-5 i IL-13 jest odwracalne poprzez wywołanie nadekspresji NEAT1. W związku z tym autorzy zasugerowali, że ten lncRNA może pełnić istotną rolę w różnicowaniu limfocytów Th2 [10].



Dr hab. n. med.
Aleksandra
Szczepankiewicz

mgr
Zuzanna Stachowiak

Pracownia Badań
Komórkowych
i Molekularnych Kliniki
Pneumonologii, Alergologii
Dziecięcej i Immunologii
Klinicznej UM
w Poznaniu

Kierownik Pracowni:
Dr hab. n. med.
Aleksandra
Szczepankiewicz

Kierownik Kliniki:
Prof. dr hab. n. med.
Anna Bręborowicz

Słowa kluczowe:

długie niekodujące RNA, odpowiedź Th2, astma, alergicznemu nieżyciu nosa, atopowe zapalenie skóry

Key words:

long non-coding RNA, Th2 response, asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis

Długie niekodujące RNA w astmie

Jednym z pierwszych badań, w których wykazano rolę długich niekodujących RNA w astmie było badanie Tsitsiou i wsp. [11], w którym zaobserwowano zmiany w ekspresji lncRNA odpowiadających za regulację aktywacji limfocytów T CD8+ (ale nie CD4+) u pacjentów chorych na ciężką astmę.

W kolejnych badaniach klinicznych analizujących profil ekspresji lncRNA w astmie zaobserwowano, że jeden z nich (PVT1) wykazuje zwiększoną ekspresję u pacjentów z astmą ciężką niewrażliwą na glikokortykosteroidy, podczas gdy u pacjentów z astmą wrażliwą na steroidy obserwowano zmniejszoną ekspresję tego lncRNA. Badania funkcjonalne wskazały, że jest on związany z regulacją sekrecji IL-6 z komórek mięśni gładkich dróg oddechowych pacjentów z astmą ciężką, a także z remodelingiem dróg oddechowych [12]. Wskazano również, że inhibicja PVT1 może wpływać na ograniczenie przebudowy ściany oskrzeli, co stwarza możliwość zastosowania PVT1 w ukierunkowanej terapii astmy ciężkiej.

Zhu i wsp. potwierdzili, że u podłoża astmy eozynofilowej leżą zmiany w profilu ekspresji lncRNA, które modyfikują odpowiedź immunologiczną [13]. Analiza ekspresji krwi obwodowej pacjentów z astmą eozynofilową wykazała zaburzoną regulację 41 cząsteczek lncRNA w porównaniu do grupy kontrolnej, a analiza szlaków biologicznych wskazała, że cząsteczki te odpowiadają m.in. za regulację szlaku sygnałowego receptora limfocytów T, receptorów PPAR, NF-κB i chemokin.

Badanie profilu ekspresji lncRNA przeprowadzono również na subpopulacji limfocytów T pomocniczych zaangażowanych w alergiczną odpowiedź immunologiczną tj. limfocytach CD4+ od pacjentów z astmą. W badaniu tym wykazano istotne różnice w ekspresji dla 2725 lncRNA w porównaniu do grupy kontrolnej. Walidacja wybranych genów wykazała zwiększoną ekspresję jednej cząsteczki lncRNA (ENST00000444682) oraz zmniejszoną ekspresję 3 genów (ENST00000566098, ENST00000583179 i ENST00000579468) w astmie [14], co korelowało m.in. z różną ekspresją cytokin Th2 (IL-13, IL-4, IL-5, IL-6) oraz czynnością płuc. Nie wykazano natomiast związku badanych lncRNA z liczbą eozynofiliów, stężeniem całkowitych IgE ani stężeniem tlenu azotu w powietrzu wydychanym.

Rolę długich niekodujących RNA w astmie potwierdzono również na modelu zwierzęcym astmy [15-17]. W badaniu Zhang i wsp. zaobserwowano zmniejszoną ekspresję cząsteczki lncRNA (BCYRN1) w astmie u szczura [16], natomiast Wang i wsp. wykazali zmiany w ekspresji szeregu lncRNA na mysim modelu astmy po podaniu indukowanych mezenchymalnych komórek macierzystych [18]. W niezależnych badaniach BCYRN1 okazał się istotnym regulatorem ekspresji TRPC1 (ang. transient receptor potential 1) wpływając na aktywację, proliferację i migrację komórek mięśni gładkich dróg oddechowych [15]. W przebudowie dróg oddechowych charakterystycznej dla astmy istotny okazał się również inny długi niekodujący RNA, GAS5 (ang. growth arrest-specific transcript) [17]. W badaniu szczurów z cechami astmy (zwiększony opór wydechowy) wykazano istotną rolę szlaku GAS5/miR-10a/BDNF w stymulowaniu proliferacji

komórek mięśni gładkich dróg oddechowych, istotnych w procesie przebudowy ściany oskrzeli. Szczury z astmą miały istotnie wyższą ekspresję GAS5 pod wpływem płytkowego czynnika wzrostu (PDGF-BB). Natomiast wyciszenie tego lncRNA ograniczało aktywację komórek mięśniówki i zmniejszało nadreaktywność oskrzeli u szczurów z objawami astmy. Podwyższoną ekspresję tego lncRNA potwierdzono w badaniach *in vitro* zarówno w komórkach mięśni gładkich dróg oddechowych jak i komórkach nabłonka dróg oddechowych pod wpływem cytokin zapalnych [19].

Długie niekodujące RNA w ANN

Poza astmą, rolę lncRNA w regulacji zapalenia alergicznego wykazano również w alergicznym nieżyty nosa. W pracy Ma i wsp. [20] zaobserwowano zmienioną co najmniej dwukrotnie ekspresję ponad 2000 lncRNA w śluzówce nosa pacjentów z alergicznym nieżytem nosa (ANN) w porównaniu do profilu śluzówki pacjentów nie wykazujących fenotypu alergicznego. Ponadto, analiza szlaków biologicznych wskazała na istotny udział tych lncRNA w regulacji odpowiedzi immunologicznej związanej z alergicznym nieżytem nosa m.in. sekrecją interleukiny 13, migracją leukocytów, nasileniem odpowiedzi zapalnej, szlakiem sygnałowym receptora TCR, receptorów Toll-like oraz NF-κB.

Rolę długich niekodujących RNA w patogenezie alergicznego nieżyty nosa potwierdzono również w najnowszej pracy na modelu zwierzęcym [21]. Analiza ekspresji lncRNA w limfocytach T CD4+ wskazała, że 158 lncRNA miało zmienioną ekspresję (110 ulegało nadmiernej ekspresji, natomiast 48 wykazało zmniejszoną ekspresję). Cząsteczki te są istotne m.in. w regulacji transportu jonów wapnia, aktywacji limfocytów B, szlaku sygnałowym chemokin oraz różnicowaniu limfocytów T, co może potwierdzać ich rolę w patogenezie alergicznego nieżyty nosa.

Długie niekodujące RNA w AZS

Istotną rolę długich niekodujących RNA wykazano również w atopowym zapaleniu skóry (AZS). W badaniu Wang i wsp. [22] przeprowadzonym na modelu zwierzęcym atopowego zapalenia skóry zaobserwowano zmiany w ekspresji 7 cząsteczek lncRNA: humanlncRNA0016+, uc008thl.1, uc029qxr.1 i AK077345 wykazały zwiększoną ekspresję, natomiast ekspresja uc029ycn.1, ENSMUST00000164311 i ENSMUST00000149791 uległa zmniejszeniu. Ponadto, analiza korelacji kompetycyjnych endogennych RNA wskazała, że długi niekodujący RNA (humanlncRNA0490+) współzawodniczy o wiązanie z miR-155-5p. Na modelu atopowego zapalenia skóry wykazano, że obniżona ekspresja tego lncRNA korelowała ze zwiększoną ekspresją miR-155-5p, zmniejszając ekspresję genu Pkia (inhibitor kinaz białkowych zależnych od cAMP). Zmianom tym towarzyszył również wzrost stężenia szeregu cytokin zapalnych (IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-17, eotaksyny, MCP-1/CCL-2, MIP-1/CCL3, MIP-1/CCL4, RANTES i TARC).

Podsumowując, wyniki dotychczasowych badań wskazują na istotną rolę długich niekodujących RNA zarówno w różnicowaniu limfocytów Th2 i odpowiedzi alergicznej, jak i astmie i związanej z nią przebudową dróg oddechowych. Sugeruje to znaczący potencjał regulacyjny tych cząsteczek, a także stwarza możliwość interwencji terapeutycznych ukierunkowanych na modyfikację ekspresji długich niekodujących RNA. ■

Adres do korespondencji:
Pracownia Badań Komórkowych
i Molekularnych Kliniki
Pneumonologii, Alergologii
Dziecięcej i Immunologii Klinicznej,
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu
ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań

Prace nadesłano
10.04.2019
Zaakceptowano do
druku 18.04.2019

Konflikt interesów nie występuje.
Treści przedstawione w artykule
są zgodne z zasadami Deklaracji
Helsińskiej, dyrektywami EU oraz
ujednoliconymi wymaganiami dla
czasopism biomedicalnych.