

LncRNA在缺血性卒中中的作用机制研究

黄文吉¹, 姚超杰², 张小兵², 桑爽¹, 俞学斌^{2*}

¹绍兴文理学院医学院, 浙江 绍兴

²绍兴市人民医院神经外科, 浙江 绍兴

收稿日期: 2024年10月27日; 录用日期: 2024年11月21日; 发布日期: 2024年11月27日

摘要

缺血性脑卒中作为全球发病率、致残率最高的疾病之一。其会引起中枢神经系统功能障碍、神经炎症和神经元死亡等一系列病理生理改变, 临床预后较差。长非编码RNA (LncRNA) 作为非编码RNA家族中的一员, 近些年在肿瘤、心血管疾病和神经退行性疾病等领域成为研究的热点。近期通过对缺血性卒中的细胞、动物模型以及临床患者的样本进行测序分析, 均发现它们的LncRNA转录谱存在显著差异。进一步研究表明, 表达异常的LncRNA参与了缺血性卒中引发的细胞凋亡、细胞自噬、免疫炎症、氧化应激以及血管生成等病理生理过程, 并通过不同层面的调控机制对卒中的预后产生正面或负面的影响。本文将对LncRNA转录前后调控等机制进行探讨, 以阐明LncRNA调控链与缺血性卒中转归之间的关系, 为缺血性卒中患者治疗提供新的思路。

关键词

长非编码RNA (LncRNA), 缺血性脑卒中, 微肽, 作用机制, 综述

Study on the Mechanism of LncRNA in Ischemic Stroke

Wenji Huang¹, Chaojie Yao², Xiaobin Zhang², Shuang Sang¹, Xuebin Yu^{2*}

¹School of Medicine, Shaoxing University, Shaoxing Zhejiang

²Department of Neurosurgery, Shaoxing People's Hospital, Shaoxing Zhejiang

Received: Oct. 27th, 2024; accepted: Nov. 21st, 2024; published: Nov. 27th, 2024

Abstract

Ischemic stroke, a global leader in both incidence and disability rates, triggers a cascade of pathological changes within the central nervous system: dysfunction, neuroinflammation, and neuronal

*通讯作者。

文章引用: 黄文吉, 姚超杰, 张小兵, 桑爽, 俞学斌. LncRNA在缺血性卒中中的作用机制研究[J]. 临床医学进展, 2024, 14(11): 1470-1477. DOI: 10.12677/acm.2024.14113034

loss, frequently accompanied by bleak prognoses. Among the non-coding RNA family, long non-coding RNAs (LncRNAs) have lately captivated scientific interest across disciplines like oncology, cardiovascular diseases, and neurodegeneration. Recent sequencing endeavors in cellular models, animal studies, and actual ischemic stroke patient samples have unveiled marked discrepancies in LncRNA expression patterns. Advancing these findings, it's been elucidated that dysregulated LncRNAs are embroiled in the intricate mechanisms following stroke, such as cell death, autophagy, immune responses, and vascular formation, influencing recovery either detrimentally or beneficially through multifaceted regulatory pathways. This discourse delves into the intricacies of LncRNA modulation—genetic, transcriptional, and post-transcriptional—to illuminate how this regulatory network intersects with stroke outcomes, paving the way for innovative therapeutic strategies in ischemic stroke management.

Keywords

Long Non-Coding RNAs (LncRNAs), Ischemic Stroke, Micropeptide, Mode of Action, Overview

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 缺血性卒中与 LncRNA 概述

缺血性脑卒中具有高发病率、高致残率、高死亡率、高复发率、高经济负担五大特点，在全球范围内造成了沉重的疾病负担[1]。尽管临床上开发了静脉溶栓(IVT)、机械取栓(EVT)和药物等方法干预缺血性卒中，但这些治疗手段因治疗窗口短、相对禁忌症多或引发感染出血等并发症，仅能给少数患者提供有效治疗，局限性大[2] [3]。因此，了解缺血性卒中的潜在病理机制，并从中寻找新的治疗手段尤为重要。

在哺乳动物基因组中，仅存在 2%~5% 的基因编码蛋白质，其余部分将近 75% 的基因组是非编码 RNA。其中将由 RNA polyII 合成的长度超过 200 个核苷酸的称为长非编码 RNA (LncRNA) [4]。绝大多数长链非编码 RNA (LncRNA) 作为一类不编码蛋白质的 RNA，在多种神经退行性疾病中发挥关键作用，其中对缺血性卒中的发展及预后有着重要影响。近来研究表明，LncRNAs 在阿尔茨海默病、亨廷顿病和强直性脊柱炎等中枢神经退行性疾病表达被动态调控，通过多种转录和转录后等机制来调节蛋白质编码基因的表达，从而影响神经发生和 CNS 细胞稳态[5]。与这些退行性疾病类似，缺血性卒中导致小胶质细胞极化、血管内皮细胞生成和神经元凋亡等病理生理过程，间接破坏了脑微环境稳态。值得一提的是多种 LncRNA 如 ANRIL、MEG3、H19 等在此期间出现表达异常[6] [7]。因此，本文就 LncRNAs 在缺血性卒中发展中的作用机制及临床意义进行探讨。

2. LncRNA 分类

最初根据它们与蛋白质编码基因相对的相对位置被分为几种不同的类型：(1) 正义 LncRNAs；(2) 反义 LncRNAs；(3) 内含子 LncRNAs；(4) 基因间 LncRNAs；(5) 双向 LncRNAs；(6) 增强子 LncRNAs。按照效应机制的不同，将长链非编码 RNA 四大类：(a) 信号分子；(b) 诱饵分子；(c) 引导分子；(d) 支架分子。

这里我们根据其功能对 LncRNA 作用机制进行分类探讨：

一、转录前调控：哺乳动物 LncRNA 介导的表观遗传学改变的研究，最早源于基因组印记和 X 染色体失活两个方面，分别与 H19 [8] [9] 和 Xist RNA [10] 密切相关。近十年研究发现，LncRNA 与基因组调控密切相关，并且发现了更为具体的作用机理，如下：(i) 在编码蛋白的基因上游或启动子区转录，干扰

下游基因的表达[11]。(ii) 抑制 RNA 聚合酶 II 或者介导染色质重构以及组蛋白修饰[12]。(iii) 与编码蛋白基因的转录本形成互补双链, 干扰 mRNA 的剪切, 形成不同的剪切形式[13]。(iv) 与编码蛋白基因的转录本形成互补双链, 在 Dicer 酶的作用下产生内源性 siRNA [14]等。

二、转录调控: 1) 在编码蛋白的基因上游或启动子区转录, 干扰下游基因的表达: 酵母的 SER3 基因受到上游一段 LncRNA——SRG1 的干扰[15]; 人类细胞中的细胞周期蛋白 D1 (CCND1)的表达, DNA 损伤信号诱导该基因启动子上游一段 LncRNA 的表达, 它可调节 RNA 结合蛋白——TLS 的活性, 接着 TLS 抑制 CREB 结合蛋白——组蛋白乙酰基转移酶和 p300 的活动, 进而使 CCND1 基因的表达沉默[11]。2) 抑制 RNA 聚合酶 II 或者介导染色质重构以及组蛋白修饰, 影响下游基因的表达: 小鼠的一段 LncRNA——Evl2 转录自一段超保守的远端增强子, 它可与转录因子 DLX2 形成转录复合体, 并结合至另一个增强子上, 从而诱导邻近蛋白编码基因 DLX6 的表达。通过与影响启动子选择的抑制性复合物相互作用, 封锁启动子区域来调控 RNA 聚合酶(RNAP) II 的活动从而干扰基因表达[16]。

三、转录后调控: 1) 与编码蛋白基因的转录本形成互补双链, 干扰 mRNA 的剪切, 形成不同的剪切形式, 如 LncRNA-Zeb2/Sip1 能够和 HOX 位点转录的 mRNA 的一个内含子的 5'端剪切位点形成双链, 从而防止该内含子被剪切。该区域含有对于 Zeb2 蛋白表达所必须的核糖体结合位点, Zeb2 通过这种方式能提高 Zeb2 蛋白的表达量[13]。2) 与编码蛋白基因的转录本形成互补双链, 在 Dicer 酶的作用下产生内源性 siRNA:LncRNA 的复性(退火)具有靶向作用, 使蛋白受体复合物能够识别正义链 mRNA 转录本, 这一作用类似于 RNA 诱导的沉默复合物(RISC)通过 siRNA 靶向作用于 mRNA, 来自于互补转录本甚至是 LncRNA 的双链 RNA, 结合延长的内部发夹结构, 能够被加工成内源性 siRNA 以使基因表达沉默[14]。3) 与特定蛋白质结合, LncRNA 转录本可调节相应蛋白的活性: LncRNA——NKILA 与 NF- κ B 相互作用 -I κ B α 复合物通过结合 p65 并调节 T 细胞活化诱导的细胞死亡是通过抑制 NF- κ B 活性[17]。4) 作为结构组分与蛋白质形成核酸蛋白质复合体: Tsai 等的研究显示, HOTAIR 作为骨架分子发挥作用, 其两端结合不同的组蛋白修饰复合体——5'端结合 PRC2 复合体, 而 3'端结合 LSD1/CoREST/REST 复合体, 即由赖氨酸特异性脱甲基酶 1 (Lysine-specific demethylase 1, LSD1)、阻遏元件-1 沉默转录因子辅阻遏物(Corepressor for repressor element-1 silencing transcription factor, CoREST)和阻遏元件-1 沉默转录因子(Repressor element-1 silencing transcription factor, REST)等 3 种蛋白质结合而成的复合体[18]。5) 结合到特定蛋白质上, 改变该蛋白质的细胞定位: 与 HuR 相互作用, 导入细胞质; 与 GRSF1 相互作用以稳定线粒体[19]。6) 作为小分子 RNA (如 miRNA、piRNA)的前体分子: LncRNA Bic、H19 分别可作为 miR-155 和 miR-675 的前体[20] [21]。7) LncRNA 作为 ceRNA, 结合相应的 miRNA 使其不发挥作用, 增加相关蛋白翻译和表达: 整合 miR-205, 从而导致上调 ZEB1 和 ZEB2 mRNA 并促进上皮 - 间质转化[22]。

四、微肽(micropeptides): LncRNA 具备一个或多个 sORF (短开放阅读框), 可编码功能性微肽(SEP)并参与到各种生物过程中, 例如炎症与免疫、人类常见癌症等过程[23]。研究表明, 一种由心肌球细胞(CDCs)分泌的微肽 slitharin (Slit)在心肌梗死大鼠中发挥了心脏保护作用, 表现为在损伤后 48 小时减少了梗死面积[24]。此外, LncRNA AF127577.4 分泌的微肽通过 METTL3 抑制胶质母细胞瘤细胞增殖[25]。

3. 不同 LncRNA 机制对缺血性卒中的调控

1) ANRIL——CARD8 上游转录: Bai Ying 的团队利用人脐静脉内皮细胞中 ANRIL 的敲除和过表达, 验证得到 CARD8 是受其调控的下游靶基因。通过卒中病例风险基因的对照研究得知 CARD8 SNPrs2043211 与缺血性卒中存在显著基因型相关性。ANRIL 可能通过相同的启动子序列调节 CARD8 通路来增加缺血性卒中的风险, 但是 CARD8 在卒中中的详细发病机制尚不清楚[26]。

2) FosDT——染色质修饰蛋白 coREST 和 Sin3a: Suresh L 等人[27]在成年大鼠 MCAO/R 模型中发现

基因同源的 FosDT 和 Fos 表达被诱导增加,同时 REST 和 coREST 的 mRNA 及蛋白水平也被显著诱导。已知染色质修饰蛋白 CMP——coREST 和 Sin3a 作为 REST 复合物介导的基因抑制的重要组成部分,LncRNA 可与 CMP 结合,引导它们到特定的基因组位点[28]。REST 可抑制 AMPA 受体亚基 GluR2 启动子活性和基因表达,增加钙离子通过 AMPA 受体离子通道内流,加重神经元损伤从而促进缺血后神经元凋亡[29]。与此同时, RNA 免疫共沉淀显示,在再灌注 6 小时后,coREST 和 Sin3a 与 FosDT 的结合增加。因此我们推论卒中发生时 FosDT 通过与 coREST 和 Sin3a 结合后靶向定位于 REST 基因,诱导其表达增加,抑制神经元细胞 GluR2 来促进后脑损伤。

3) H19——乙酰组蛋白 H3、H4: 有人发现 MCAO 小鼠的血浆、白细胞和大脑的 H19 水平升高。往脑室内注射 H19 siRNA 可以减少 MCAO 梗死体积和脑水肿,降低脑组织和血浆中 TNF- α 和 IL-1 β 水平,卒中后 24 h 后血浆 IL-10 浓度增加,减轻了梗塞后 14 天的神经损伤和功能缺陷。通过 BV2 细胞 OGD 实验进一步得知,敲低 H19 可减少 TNF α 和 CD11b 的产生,增加 Arg-1 和 CD206 的表达,驱动小胶质细胞从 M1 向 M2 极化。与此同时,他们发现 H19 可正向调控组蛋白去乙酰化酶 1 (HDAC1)来影响乙酰组蛋白 H3、H4 的表达。因此推测 H19 可能通过间接影响组蛋白修饰驱动小胶质极化来影响缺血缺氧引起的神经炎症,其中 H19 调节 HDAC1 的具体机制有待明确[30]。

4) H19——miR-675 产物——p53 蛋白: Wang J 等人[31]利用 H19 siRNA 显著降低小鼠 MCAO/R 后 14d 脑梗死体积,促进小鼠神经缺陷恢复,且增加了 Notch1 蛋白水平、p53 靶基因的转录及其激活形式 p-p53 的表达。而抑制 p53 可消除 H19 的这些原始影响。查阅相关资料得知[32],P53 可作为 Notch1 转录的活性和负调控因子,被招募到 Notch1 基因的启动子来启动 Notch1 的转录。另外,有人报道过 miR-675 作为 H19 的成熟产物也可以抑制 p53 的活性[33]。因此,他们猜测,在缺血性脑卒中脑中表达上调的 H19 可作为 miR-675 的来源,可以减少 p53 蛋白,从而抑制 Notch1 及其下游通路,阻碍了神经发生。

5) ANRIL——结合 NF- κ B/I κ B 蛋白: Zhang Bo 等人在糖尿病(DM)合并脑梗死(CI)后血管生成方面的研究中发现,DM + CI 组中血管生长因子 VEGF、NF- κ B、p-I κ B/I κ B 蛋白表达、VEGF、FLT-1、NF- κ B 和 mRNA 蛋白表达增加,并且在大鼠 DM 合并 MCAO 模型中,通过转染高表达 ANRIL 的质粒可以显著升高 VEGF 和 NF- κ B,这一效果被 NF- κ B 抑制剂(PDTC)所阻遏。ANRIL 的上调通过激活 NF- κ B 信号通路上调 VEGF 表达,促进脑梗死的血管生成而起到机体保护作用。进一步得知,NKILA 是与 NF- κ B/I κ B 结合,直接屏蔽 I κ B 磷酸化基序,从而影响 I κ B 磷酸化和 NF- κ B 激活,进一步激活 NF- κ B 信号通路[34] [35]。

6) 内源性竞争结合 miRNA: Wang Haoyue 的团队发现在 OGD 处理后 24 h,小胶质细胞中 TUG1 的细胞水平短暂升高,与下调的 miR-145a-5p 呈反相关,然后他们采用 RNA-RNA pull-down 证实 TUG1 与 miR-145a-5p 存在竞争性结合。进一步利用 TUG1 siRNA 转染 BV-2 细胞,然后进行 OGD 4 h/复氧 24 h,可减少促炎细胞因子(TNF- α , IL-6)并增加抗炎细胞因子 IL-10 的释放,表明小胶质从 M1 向 M2 表型转化。同时,TUG1 的敲除阻止了 OGD 诱导的 NF- κ B 通路的激活,而 miR-145a-5p 抑制剂共转染却明显消除了 TUG1 敲低对 NF- κ B 激活的影响。因此他们得出结论:TUG1 可以竞争性结合 miR145a-5p,增加 NF- κ B 表达,导致小胶质向 M1 极化,加重神经炎症[36]。另外 Dong You 等人的研究也发现在脑卒中发生时,MEG3 会导致脑血管细胞凋亡和神经元损伤,具体机制推测为 LncRNA MEG3 “sponge” MiR-378,减少 GRB2 诱导神经元自噬从而减少神经功能损伤[37]-[39]。类似地,Hongwei Wang 等人的研究得到:敲低 MALAT1 增加了 MA-C 细胞的细胞生存能力,降低了细胞凋亡,最终证实是 MALAT1 通过竞争性结合 miR-145 积极调节 AQP4 的表达[40]。

7) LncRNA-U90926——MDH2 复合物: Chen Jian 等人发现 LncRNA-U90926 在体内外缺血/再灌注暴露的小胶质细胞中均显著增加。另外,他们利用 AAV 介导小胶质细胞 U90926 沉默的技术,减少卒中小鼠脑内中性粒细胞向缺血性病变部位的浸润,减轻了神经功能缺损并减少了梗塞体积。通过对机制的深

入挖掘, 他们发现 U90926 可直接与苹果酸脱氢酶 2 (MDH2) 结合形成复合体, 并竞争性地抑制 MDH2 与 CXCL2 3'非翻译区(UTR)的结合, 从而防止 MDH2 介导的 CXCL2 mRNA 衰变, 而 CXCL2 配体正是作为中性粒细胞浸润所必需的[41]。

4. 讨论与展望

综上所述, LncRNA 可以通过对转录前后的分子调控来调节神经元细胞存活、小胶质细胞极化和血管内皮细胞发生, 这些病理生理过程在缺血性卒中中发挥重要作用。LncRNA 在缺血性脑卒中发生时可以通过多种机制途径, 对卒中的转归产生或正面或负面或双向的影响(表 1)。阐明这些 LncRNA 在正常和病理条件下的生物系统中的功能和机制, 可能为识别生物标志物 and 新的治疗靶向提供潜在的机会。目前为止, 在缺血性脑卒中病理过程中被研究的 LncRNA 还十分有限, 研究最广泛的是 LncRNA 作为 ceRNA 分子参与相应 miRNA 的拮抗来调控下游蛋白表达[42]。然而, LncRNA 编码微肽的机制在缺血性脑卒中方面是否存在相关作用通路还有待深入挖掘。这将为阐明缺血性卒中发展机制拓宽新的思路。有证据表明, HSC70 是树突状细胞(DCs)中抗原运输和呈递所需的伴侣, 而 MIR155HG 在炎症抗原呈递细胞中高度表达, 其编码的 P155 通过破坏 HSC70-HSP90 机制调节主要组织相容性复合体 II 类介导的抗原呈递和 T 细胞启动。外源性注射 P155 改善两种经典小鼠 dc 驱动的自身炎症模型。其中 P155 是通过与热休克同源蛋白 70 (HSC70)的腺苷 5'-三磷酸结合域(ATP 酶区)相互作用, 抑制 HSC70 的 ATP 酶活性, 从而破坏其功能活动[43]。另外有研究显示同为热休克蛋白家族的 HSP70 在脑卒中方面存在多种保护性机制[44]。它们的 ATP 结合域存在高度的保守性, 因此我们设想 P155 可能也会通过结合 HSP70 而抑制其功能, 并可以采取共定位方式进行验证。同时, 在临床研究脑卒中患者血清成分时, 发现 LncRNA MIR155HG 上调, 可以衍生 mir-155, 从而加重炎症, 对脑卒中疾病发展产生不利影响[45] [46]。Bhatta 等[47]在小鼠巨噬细胞中发现一种 LncRNA 1810058I24Rik, 它在暴露于脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)以及其他 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)和炎症细胞因子的人和鼠骨髓细胞中被下调。并且其编码的线粒体微肽-47 (mitochondrial micropeptide-47, Mm47)被证实可激活 NLRP3 炎症小体, 参与机体的先天免疫反应和炎症进程。小胶质细胞作为脑内巨噬细胞, NLRP3 炎症小体参与介导脑内巨噬细胞——小胶质细胞的极化过程以及血脑屏障的通透性[48] [49], 从而影响脑卒中预后, Mm47 或将成为治疗脑卒中新的靶点。

Table 1. lncRNAs 在脑缺血损伤中的作用

表 1. Role of lncRNAs in cerebral ischemic injuries

LncRNA	作用机制	卒中相关	具体机制	预后影响(正/负面)
	在编码蛋白的基因上游或启动子区转录	ANRIL	CARD8 是 ANRIL 调控的下游靶基因。CARD8 单核苷酸多态性 rs2043211 与缺血性卒中显著相关。ANRIL 可能通过调节 CARD8 通路增加缺血性卒中的风险	负面: 增加卒中风险
	与编码蛋白基因的转录本形成互补双链, 在 Dicer 酶的作用下产生内源性 siRNA	未知	/	/
	遗传抑制 RNA 聚合酶 II 或者介导染色质重构以及组蛋白修饰	FosDT H19	与(CMPs) Sin3a 和 coREST 的结合, 调控下游基因 乙酰组蛋白 H3 和乙酰组蛋白 H4 下调	负面: 梗死增加, 运动缺陷 负面: M1 极化上调炎症
	与编码蛋白基因的转录本形成互补双链, 干扰 mRNA 的剪切, 形成不同的剪切形式	未知	/	/

续表

与特定蛋白质结合, LncRNA 转录本可调节相应蛋白的活性	NKILA	与 NF-κB/IκB 结合, 影响 IκB 磷酸化和 NF-κB 激活, 上调 VEGF 表达	正面: 血管再生
作为小分子 RNA (如 miRNA、piRNA) 的前体分子	H19	作为 miR-675 前体, 抑制 p53 的活性	负面: 梗死增加, 神经功能缺陷上调炎症, 促进凋亡
非 表 观 遗 传	TUG1	miR-145-a-5p 的相互作用, 激活 NF-κB	负面: M1 极化上调炎症
	MEG3	MEG3/MiR-378/GRB2 轴减少神经元自噬	负面: 神经元凋亡增加减轻细胞凋亡、脑梗死和神经元损失, 从而保护神经元
	Malat1	竞争性结合 miR-145 积极调节 AQP4 的表达或者	负面: 星形胶质细胞凋亡增加, 存活率下降上调炎症
作为结构组分与蛋白质形成核酸蛋白质复合体	LncRNA-U90926	U90926 与 MDH2 结合, 并竞争性地抑制其与 CXCL2 3'-UTR 的结合, 防止 CXCL2 mRNA 的衰变	负面: 促进中性粒细胞浸润加重缺血性脑损伤
结合到特定蛋白质上, 改变该蛋白质的细胞定位	未知	/	/

参考文献

- [1] Feigin, V.L., Brainin, M., Norrving, B., Martins, S., Sacco, R.L., Hacke, W., *et al.* (2022) World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022. *InterNational Journal of Stroke*, **17**, 18-29. <https://doi.org/10.1177/17474930211065917>
- [2] Tsivgoulis, G., Kargiotis, O., De Marchis, G., Kohrmann, M., Sandset, E.C., Karapanayiotides, T., *et al.* (2021) Off-label Use of Intravenous Thrombolysis for Acute Ischemic Stroke: A Critical Appraisal of Randomized and Real-World Evidence. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, **14**. <https://doi.org/10.1177/1756286421997368>
- [3] Pilgram-Pastor, S.M., Piechowiak, E.I., Dobrocky, T., Kaesmacher, J., Den Hollander, J., Gralla, J., *et al.* (2021) Stroke Thrombectomy Complication Management. *Journal of NeuroInterventional Surgery*, **13**, 912-917. <https://doi.org/10.1136/neurintsurg-2021-017349>
- [4] Achawanantakun, R., Chen, J., Sun, Y. and Zhang, Y. (2015) LncRNA-ID: Long Non-Coding RNA Identification Using Balanced Random Forests. *Bioinformatics*, **31**, 3897-3905. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv480>
- [5] Policarpo, R., Sierksma, A., De Strooper, B. and d'Ydewalle, C. (2021) From Junk to Function: LncRNAs in CNS Health and Disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **14**, Article 714768. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.714768>
- [6] Bao, M., Szeto, V., Yang, B.B., Zhu, S., Sun, H. and Feng, Z. (2018) Long Non-Coding RNAs in Ischemic Stroke. *Cell Death & Disease*, **9**, Article No. 281. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0282-x>
- [7] Chen, R., Xu, X., Huang, L., Zhong, W. and Cui, L. (2019) The Regulatory Role of Long Noncoding RNAs in Different Brain Cell Types Involved in Ischemic Stroke. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **12**, Article 61. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00061>
- [8] Brannan, C.I., Dees, E.C., Ingram, R.S. and Tilghman, S.M. (1990) The Product of the H19 Gene May Function as an RNA. *Molecular and Cellular Biology*, **10**, 28-36. <https://doi.org/10.1128/mcb.10.1.28>
- [9] Jarroux, J., Morillon, A. and Pinskaya, M. (2017) History, Discovery, and Classification of LncRNAs. In: Rao, M., Ed., *Long Non Coding RNA Biology*, Springer Singapore, 1-46. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3_1
- [10] Wutz, A. (2011) Gene Silencing in X-Chromosome Inactivation: Advances in Understanding Facultative Heterochromatin Formation. *Nature Reviews Genetics*, **12**, 542-553. <https://doi.org/10.1038/nrg3035>
- [11] Yoneda, R., Ueda, N., Uranishi, K., Hirasaki, M. and Kurokawa, R. (2020) Long Noncoding RNA PncRNA-D Reduces Cyclin D1 Gene Expression and Arrests Cell Cycle through RNA M6a Modification. *Journal of Biological Chemistry*, **295**, 5626-5639. <https://doi.org/10.1074/jbc.ra119.011556>
- [12] Yap, K.L., Li, S., Muñoz-Cabello, A.M., Raguz, S., Zeng, L., Mujtaba, S., *et al.* (2010) Molecular Interplay of the Noncoding RNA ANRIL and Methylated Histone H3 Lysine 27 by Polycomb CBX7 in Transcriptional Silencing of

- INK4A. *Molecular Cell*, **38**, 662-674. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.03.021>
- [13] Beltran, M., Puig, I., Peña, C., García, J.M., Álvarez, A.B., Peña, R., *et al.* (2008) A Natural Antisense Transcript Regulates Zeb2/Sip1 Gene Expression during Snail1-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition. *Genes & Development*, **22**, 756-769. <https://doi.org/10.1101/gad.455708>
- [14] Guttman, M., Amit, I., Garber, M., French, C., Lin, M.F., Feldser, D., *et al.* (2009) Chromatin Signature Reveals over a Thousand Highly Conserved Large Non-Coding RNAs in Mammals. *Nature*, **458**, 223-227. <https://doi.org/10.1038/nature07672>
- [15] Martens, J.A., Laprade, L. and Winston, F. (2004) Intergenic Transcription Is Required to Repress the *Saccharomyces Cerevisiae* SER3 Gene. *Nature*, **429**, 571-574. <https://doi.org/10.1038/nature02538>
- [16] Feng, J., Bi, C., Clark, B.S., Mady, R., Shah, P. and Kohtz, J.D. (2006) The *Evf-2* Noncoding RNA Is Transcribed from the Dlx-5/6 Ultraconserved Region and Functions as a Dlx-2 Transcriptional Coactivator. *Genes & Development*, **20**, 1470-1484. <https://doi.org/10.1101/gad.1416106>
- [17] Tsai, M., Manor, O., Wan, Y., Mosammamaparast, N., Wang, J.K., Lan, F., *et al.* (2010) Long Noncoding RNA as Modular Scaffold of Histone Modification Complexes. *Science*, **329**, 689-693. <https://doi.org/10.1126/science.1192002>
- [18] Huang, D., Chen, J., Yang, L., Ouyang, Q., Li, J., Lao, L., *et al.* (2018) NKILA LncRNA Promotes Tumor Immune Evasion by Sensitizing T Cells to Activation-Induced Cell Death. *Nature Immunology*, **19**, 1112-1125. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0207-y>
- [19] Noh, J.H., Kim, K.M., Abdelmohsen, K., Yoon, J., Panda, A.C., Munk, R., *et al.* (2016) Hur and GRSF1 Modulate the Nuclear Export and Mitochondrial Localization of the LncRNA *RMRP*. *Genes & Development*, **30**, 1224-1239. <https://doi.org/10.1101/gad.276022.115>
- [20] Uva, P., Da Sacco, L., Del Cornò, M., Baldassarre, A., Sestili, P., Orsini, M., *et al.* (2013) Rat Mir-155 Generated from the LncRNA *Bic* Is 'Hidden' in the AltERNAte Genomic Assembly and Reveals the Existence of Novel Mammalian miRNAs and Clusters. *RNA*, **19**, 365-379. <https://doi.org/10.1261/RNA.035394.112>
- [21] Keniry, A., Oxley, D., Monnier, P., Kyba, M., Dandolo, L., Smits, G., *et al.* (2012) The H19 lincRNA Is a Developmental Reservoir of Mir-675 That Suppresses Growth and Igf1r. *Nature Cell Biology*, **14**, 659-665. <https://doi.org/10.1038/ncb2521>
- [22] Grelet, S., Link, L.A., Howley, B., Obellianne, C., Palanisamy, V., Gangaraju, V.K., *et al.* (2017) Addendum: A Regulated PNUTS mRNA to LncRNA Splice Switch Mediates EMT and Tumour Progression. *Nature Cell Biology*, **19**, 1443-1443. <https://doi.org/10.1038/ncb3647>
- [23] Andrews, S.J. and Rothnagel, J.A. (2014) Emerging Evidence for Functional Peptides Encoded by Short Open Reading Frames. *Nature Reviews Genetics*, **15**, 193-204. <https://doi.org/10.1038/nrg3520>
- [24] Ibrahim, A.G.E., Ciullo, A., Yamaguchi, S., Li, C., Antes, T., Jones, X., *et al.* (2024) A Novel Micropeptide, *Slitharin*, Exerts Cardioprotective Effects in Myocardial Infarction. *PROTEOMICS—Clinical Applications*, **18**, Article ID: 2300128. <https://doi.org/10.1002/prca.202300128>
- [25] Du, B., Zhang, Z., Jia, L., Zhang, H., Zhang, S., Wang, H., *et al.* (2024) Micropeptide AF127577.4-ORF Hidden in a LncRNA Diminishes Glioblastoma Cell Proliferation via the Modulation of ERK2/METTL3 Interaction. *Scientific Reports*, **14**, Article No. 12090. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62710-y>
- [26] Bai, Y., Nie, S., Jiang, G., Zhou, Y., Zhou, M., Zhao, Y., *et al.* (2014) Regulation of *CARD8* Expression by *ANRIL* and Association of *CARD8* Single Nucleotide Polymorphism rs2043211 (p.C10X) with Ischemic Stroke. *Stroke*, **45**, 383-388. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.113.003393>
- [27] Mehta, S.L., Kim, T. and Vemuganti, R. (2015) Long Noncoding RNA FosDT Promotes Ischemic Brain Injury by Interacting with Rest-Associated Chromatin-Modifying Proteins. *The Journal of Neuroscience*, **35**, 16443-16449. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2943-15.2015>
- [28] Wahlestedt, C. (2013) Targeting Long Non-Coding RNA to Therapeutically Upregulate Gene Expression. *Nature Reviews Drug Discovery*, **12**, 433-446. <https://doi.org/10.1038/nrd4018>
- [29] Calderone, A., Jover, T., Noh, K., Tanaka, H., Yokota, H., Lin, Y., *et al.* (2003) Ischemic Insults Derepress the Gene Silencer REST in Neurons Destined to Die. *The Journal of Neuroscience*, **23**, 2112-2121. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-06-02112.2003>
- [30] Wang, J., Zhao, H., Fan, Z., Li, G., Ma, Q., Tao, Z., *et al.* (2017) Long Noncoding RNA H19 Promotes Neuroinflammation in Ischemic Stroke by Driving Histone Deacetylase 1-Dependent M1 Microglial Polarization. *Stroke*, **48**, 2211-2221. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.117.017387>
- [31] Wang, J., Cao, B., Zhao, H., Gao, Y., Luo, Y., Chen, Y., *et al.* (2019) Long Noncoding RNA H19 Prevents Neurogenesis in Ischemic Stroke through P53/Notch1 Pathway. *Brain Research Bulletin*, **150**, 111-117. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.05.009>
- [32] Lefort, K., Mandinova, A., Ostano, P., Kolev, V., Calpini, V., Kolfschoten, I., *et al.* (2007) Notch1 Is a P53 Target Gene

- Involved in Human Keratinocyte Tumor Suppression through Negative Regulation of ROCK1/2 and MRCK α Kinases. *Genes & Development*, **21**, 562-577. <https://doi.org/10.1101/gad.1484707>
- [33] Liu, C., Chen, Z., Fang, J., Xu, A., Zhang, W. and Wang, Z. (2015) H19-Derived Mir-675 Contributes to Bladder Cancer Cell Proliferation by Regulating P53 Activation. *Tumor Biology*, **37**, 263-270. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3779-2>
- [34] Zhang, B., Wang, D., Ji, T., Shi, L. and Yu, J. (2016) Overexpression of LncRNA ANRIL Up-Regulates VEGF Expression and Promotes Angiogenesis of Diabetes Mellitus Combined with Cerebral Infarction by Activating NF- κ B Signaling Pathway in a Rat Model. *Oncotarget*, **8**, 17347-17359. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14468>
- [35] Liu, B., Sun, L., Liu, Q., Gong, C., Yao, Y., Lv, X., *et al.* (2015) A Cytoplasmic NF- κ B Interacting Long Noncoding RNA Blocks I κ B Phosphorylation and Suppresses Breast Cancer Metastasis. *Cancer Cell*, **27**, 370-381. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.02.004>
- [36] Wang, H., Liao, S., Li, H., Chen, Y. and Yu, J. (2019) Long Non-Coding RNA TUG1 Sponges Mir-145a-5p to Regulate Microglial Polarization after Oxygen-Glucose Deprivation. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **12**, Article 215. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00215>
- [37] You, D. and You, H. (2019) RETRACTED: Repression of Long Non-Coding RNA MEG3 Restores Nerve Growth and Alleviates Neurological Impairment after Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **111**, 1447-1457. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.067>
- [38] Wang, M., Chen, W., Geng, Y., Xu, C., Tao, X. and Zhang, Y. (2020) Long Non-Coding RNA MEG3 Promotes Apoptosis of Vascular Cells and Is Associated with Poor Prognosis in Ischemic Stroke. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, **27**, 718-726. <https://doi.org/10.5551/jat.50674>
- [39] Luo, H., Yi, T., Huang, F., Wei, Y., Luo, X. and Luo, Q. (2020) Role of Long Noncoding RNA MEG3/Mir-378/GRB2 Axis in Neuronal Autophagy and Neurological Functional Impairment in Ischemic Stroke. *Journal of Biological Chemistry*, **295**, 14125-14139. <https://doi.org/10.1074/jbc.ra119.010946>
- [40] Wang, H., Zheng, X., Jin, J., Zheng, L., Guan, T., Huo, Y., *et al.* (2020) LncRNA MALAT1 Silencing Protects against Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury through miR-145 to Regulate AQP4. *Journal of Biomedical Science*, **27**, Article No. 40. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00635-0>
- [41] Chen, J., Jin, J., Zhang, X., Yu, H., Zhu, X., Yu, L., *et al.* (2021) Microglial Lnc-U90926 Facilitates Neutrophil Infiltration in Ischemic Stroke via MDH2/CXCL2 Axis. *Molecular Therapy*, **29**, 2873-2885. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.04.025>
- [42] Lin, W., Liu, H., Tang, Y., Wei, Y., Wei, W., Zhang, L., *et al.* (2020) The Development and Controversy of Competitive Endogenous RNA Hypothesis in Non-Coding Genes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **476**, 109-123. <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03889-2>
- [43] Cabrera, Y., Dublang, L., Fernández-Higuero, J.A., Albesa-Jové, D., Lucas, M., Viguera, A.R., *et al.* (2019) Regulation of Human Hsc70 ATPase and Chaperone Activities by Apg2: Role of the Acidic Subdomain. *Journal of Molecular Biology*, **431**, 444-461. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.11.026>
- [44] Kim, J.Y., Han, Y., Lee, J.E. and Yenari, M.A. (2018) The 70-Kda Heat Shock Protein (Hsp70) as a Therapeutic Target for Stroke. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **22**, 191-199. <https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1439477>
- [45] Niu, L., Lou, F., Sun, Y., Sun, L., Cai, X., Liu, Z., *et al.* (2020) A Micropeptide Encoded by LncRNA MIR155HG Suppresses Autoimmune Inflammation via Modulating Antigen Presentation. *Science Advances*, **6**, eaaz2059. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz2059>
- [46] Wu, X., Wang, Y., Yu, T., Nie, E., Hu, Q., Wu, W., *et al.* (2017) Blocking MIR155HG/miR-155 Axis Inhibits Mesenchymal Transition in Glioma. *Neuro-Oncology*, **19**, 1195-1205. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox017>
- [47] Bhatta, A., Atianand, M., Jiang, Z., Crabtree, J., Blin, J. and Fitzgerald, K.A. (2020) A Mitochondrial Micropeptide Is Required for Activation of the Nlrp3 Inflammasome. *The Journal of Immunology*, **204**, 428-437. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900791>
- [48] Zhou, D., Chen, L., Wang, Y., Gan, L., Yuan, M., Zhang, L., *et al.* (2023) RNA Binding Protein RPS3 Mediates Microglial Polarization by Activating NLRP3 Inflammasome via SIRT1 in Ischemic Stroke. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, **32**, Article ID: 107132. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2023.107132>
- [49] Cheng, X., Ren, Z., Jia, H. and Wang, G. (2024) METTL3 Mediates Microglial Activation and Blood-Brain Barrier Permeability in Cerebral Ischemic Stroke by Regulating NLRP3 Inflammasomes through m6A Methylation Modification. *Neurotoxicity Research*, **42**, Article No. 15. <https://doi.org/10.1007/s12640-024-00687-2>