

• 基础研究 •

短暂前脑缺血再灌注对大鼠海马中脑源性神经 营养因子启动子与组蛋白去乙酰化酶 3 结合的影响及其作用机制

张倩, 严德萍, 史晋朝, 钟锦, 周阳, 赵欣, 张宇, 李建国

山西医科大学生理学系 细胞生理学教育部重点实验室, 山西 太原 030001

摘要: **目的** 评价短暂前脑缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I/R)对大鼠海马中脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)启动子与组蛋白去乙酰化酶 3(histone deacetylase 3, HDAC3)结合的影响,并探讨其作用机制。**方法** 采用Pulsinelli四血管夹闭法建立 SD 大鼠的 I/R 模型(I/R 组),同时设假手术组(Sham 组)。尼氏染色法观察大鼠海马中神经元存活情况;染色质免疫共沉淀(chromatin immunoprecipitation, ChIP)法检测大鼠海马中 BDNF 启动子(*Bdnf*-p1、*Bdnf*-p2、*Bdnf*-p4 和 *Bdnf*-p6)与 HDAC3 的结合情况;qPCR 法检测大鼠海马中反义脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor antisense, BDNF-AS)的表达情况。**结果** 与 Sham 组比较, I/R 组大鼠海马 CA1 区神经元数目大幅减少, CA3 和 DG 区神经元数目变化较小。I/R 组大鼠海马 CA1 区中 *Bdnf*-p1 和 *Bdnf*-p2 与 HDAC3 结合水平明显降低(t 分别为 2.575 和 2.241, P 均 < 0.05), *Bdnf*-p4 和 *Bdnf*-p6 与 HDAC3 结合水平差异无统计学意义(t 分别为 1.033 和 0.348, P 均 > 0.05); CA3 区中 *Bdnf*-p1 和 *Bdnf*-p2 与 HDAC3 结合水平明显增加(t 分别为 12.600 和 3.191, P 分别 < 0.001 和 < 0.05), *Bdnf*-p6 与 HDAC3 结合水平明显降低($t = 4.029$, $P < 0.05$), *Bdnf*-p4 与 HDAC3 结合水平差异无统计学意义($t = 0.175$, $P > 0.05$); DG 区中各 BDNF 启动子与 HDAC3 结合水平差异均无统计学意义($t = 0.630 \sim 1.687$, P 均 > 0.05)。I/R 组大鼠海马 CA1 区中 BDNF-AS 的表达水平明显降低($t = 2.560$, $P < 0.05$), 在 CA3 及 DG 区的表达水平均明显升高(t 分别为 3.543 和 3.637, P 均 < 0.01)。**结论** I/R 对大鼠海马中 BDNF 启动子与 HDAC3 的结合水平有显著影响,可能是通过改变 BDNF-AS 表达水平发挥作用。

关键词: 短暂前脑缺血再灌注;脑源性神经营养因子;组蛋白去乙酰化酶;海马

中图分类号: R338 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-5503(2023)02-0133-05

Effect of transient forebrain ischemia-reperfusion on the binding of brain-derived neurotrophic factor promoters to histone deacetylase 3 in hippocampus of rat and its mechanism

ZHANG Qian, YAN De-ping, SHI Jin-chao, ZHONG Jin, ZHOU Yang, ZHAO Xin, ZHANG Yu, LI Jian-guo

Key Laboratory of Cellular Physiology, Ministry of Education, Department of Physiology,

Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Corresponding author: LI Jian-guo, E-mail: lijg@sxmu.edu.cn

Abstract: **Objective** To evaluate the effect of transient forebrain ischemia-reperfusion (I/R) on the binding of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) promoters to histone deacetylase 3 (HDAC3) in the hippocampus of rat and investigate its mechanism. **Methods** The I/R model of SD rats (I/R group) was established by Pulsinelli four-vessel clamping method, and sham operation group (Sham group) was set at the same time, which were observed for the survival of neurons in the hippocampus of rats by Nissl staining, detected for the binding of BDNF promoters (*Bdnf*-p1, *Bdnf*-p2, *Bdnf*-p4 and

基金项目: 国家自然科学基金(81671231);山西省回国留学人员基金(2017-056);山西省“1331 工程”重点学科建设计划(XK201708)。

通信作者: 李建国, E-mail: lijg@sxmu.edu.cn

Bdnf-p6) to HDAC3 by chromatin immunoprecipitation (ChIP) and determined for the expression of brain derived neurotrophic factor antisense (BDNF-AS) by qPCR. **Results** Compared with Sham group, the quantity of neurons in hippocampal CA1 region of rats decreased significantly in I / R group, while those in CA3 region and DG region showed no significant changes. The binding levels of Bdnf-p1 and Bdnf-p2 to HDAC3 in hippocampal CA1 region decreased significantly in I / R Group ($t = 2.575$ and 2.241 respectively, each $P < 0.05$), while there was no significant difference in the binding levels of Bdnf-p4 and Bdnf-p6 to HDAC3 ($t = 1.033$ and 0.348 respectively, each $P > 0.05$); The binding levels of Bdnf-p1 and Bdnf-p2 to HDAC3 in CA3 region increased significantly ($t = 12.600$ and 3.191 , $P < 0.001$ and < 0.05 , respectively), while the binding level of Bdnf-p6 to HDAC3 decreased significantly ($t = 4.029$, $P < 0.05$) and no significant difference was observed in the binding level of Bdnf-p4 to HDAC3 ($t = 0.175$, $P > 0.05$); In DG region, the binding level of each BDNF promoter to HDAC3 showed no significantly difference ($t = 0.630 \sim 1.687$, each $P > 0.05$). Meanwhile, the expression level of BDNF-AS in hippocampal CA1 region of rats decreased significantly ($t = 2.560$, $P < 0.05$), but increased significantly in hippocampal CA3 and DG regions ($t = 3.543$ and 3.637 respectively, each $P < 0.01$) in I / R group. **Conclusion** I / R showed a significant effect on the binding level of BDNF promoter to HDAC3 in rat hippocampus, which may play a role by changing the expression level of BDNF-AS.

Keywords: Transient forebrain ischemia - reperfusion (I / R); Brain - derived neurotrophic factor (BDNF); Histone deacetylase 3 (HDAC3); Hippocampus

脑卒中包括缺血性和出血性两种,大部分患者为缺血性脑卒中^[1]。脑卒中易致残、致死,大量致残患者在学习记忆、语言行动等方面出现明显障碍^[2]。大脑中的海马区域与学习记忆显著相关,海马CA1区神经元对缺血较敏感,CA3区和DG区神经元对缺血不敏感^[3]。海马不同区域受到相同刺激发生不同反应的现象与脑内神经元损伤相关,但作用机制尚未明确^[4]。

损伤刺激可激活脑内多种保护机制,其中,脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)在大脑内源性保护方面具有重要作用^[5]。不同BDNF启动子能够控制BDNF的相关表达,如*Bdnf-p1*、*Bdnf-p2*、*Bdnf-p4*和*Bdnf-p6*^[6],同时,BDNF蛋白的表达还受表观遗传修饰的调控,其中组蛋白乙酰化修饰是较重要的表观遗传调节方式之一^[7]。组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)可通过改变组蛋白乙酰化程度调控基因的转录水平,从而影响蛋白表达^[8]。HDACs种类较多,根据结构功能和存在部位可分为4类,共18种亚型,其中HDAC3属于I类,在染色质重塑过程中发挥重要作用,通过表观遗传调控作用参与多种疾病的病理生理过程^[9]。

长链非编码RNAs(long non-coding RNAs, lncRNAs)是一种非编码RNA,长度多于200个核苷酸^[10],能够识别基因结合位点,经过募集组蛋白修饰酶进一步调节基因转录^[11]。反义脑源性神经营养因子(BDNF antisense, BDNF-AS)是从BDNF反义基因转录而来的一种lncRNAs,可能在启动子与HDAC3结合中发挥一定作用,相关机制尚未明确^[12]。本研究通过建

立短暂前脑缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I / R)大鼠模型,探讨I / R对大鼠海马中BDNF启动子*Bdnf-p1*、*Bdnf-p2*、*Bdnf-p4*和*Bdnf-p6*与HDAC3结合水平的影响及其可能的作用机制。

1 材料及方法

1.1 主要试剂及仪器 尼氏染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;O. C. T冰冻组织切片包埋剂购自美国SAKURA公司;染色质免疫共沉淀(chromatin immunoprecipitation, ChIP)组织样本试剂盒及HDAC3兔多克隆抗体(85057)购自美国Cell Signaling Technology公司;动物组织总RNA提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司;荧光定量PCR扩增及反转录试剂盒购自日本TaKaRa公司;紫外分光光度计购自德国艾本德公司;Olympus荧光显微镜购自日本奥林巴斯公司。

1.2 实验动物 SPF级SD大鼠,雄性,150只,10周龄,体质量260~280g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,动物许可证号为:SCXK(京)2019-0010。本实验对大鼠的所有处理均以科研为目的进行养殖和使用,且按照动物伦理相关规定进行。实验前将大鼠适应性饲养约1周,自由饮水饮食,术前禁食禁水8h。

1.3 动物分组及处理 将SD大鼠随机分为Sham组(35只)和I / R组(65只)。经大鼠腹腔注射4%水合氯醛麻醉后,固定头部,于双耳连线中点处切开约1.5cm,拨开肌层,分离翼状孔。I / R组采用Pulsinelli四血

管夹闭法建立 I/R 模型,电凝双侧翼状孔下走行的双侧椎动脉,分离双侧颈总动脉,次日夹闭双侧颈总动脉,15 min 后恢复脑内血流灌注。若大鼠在 1 min 内昏迷,翻正反射消失,眼球苍白,瞳孔散大,呼吸加深加快,表明建模成功。Sham 组大鼠除不进行椎动脉电凝和双侧颈总动脉夹闭外,其他操作同 I/R 组。

1.4 I/R 对大鼠海马中神经元存活影响的检测 采用尼氏染色法。建模 48 h 后,经大鼠腹腔注射 4% 水合氯醛麻醉,剖开心脏,经升主动脉灌注 4 °C 生理盐水 300 mL 冲洗心脏,再注入 4% 多聚甲醛约 400 mL,先快后慢,待大鼠逐渐僵硬且肺部发白后,立刻处死,取全脑组织,置 4% 多聚甲醛中浸泡固定 1 d;用 30% 蔗糖脱水,进行包埋、切片,经尼氏染色试剂盒染色,于荧光显微镜下观察并拍照。

1.5 I/R 对大鼠海马中 BDNF 启动子与 HDAC3 结合水平影响的检测 采用 ChIP 法。根据 NCBI GenBank 数据库中登录的 *Bdnf* 基因序列(24225),应用 Primer 5 软件设计引物,*Bdnf*-p1 F:5'-TCATGGTGTCCGTTCCAAA-3',R:5'-AGAGGAGCCGAGGATGATG-3';*Bdnf*-p2 F:5'-GTGAGTAGCAATAAACCTGCATT-3',R:5'-TGCTGTTCTTTGGCGTGTG-3';*Bdnf*-p4 F:5'-AACCACCAACTGTCTGGGAAA-3',R:5'-CCTCAACTTCTGTGGGTCTGTG-3';*Bdnf*-p6 F:5'-GGTGCAGGGGAATTAGGATA-3',R:5'-GGCTGCTTAAAGGGACGA-3'。引物由宝生物工程(大连)有限公司合成。采用 ChIP 组织样本试剂盒提取两组大鼠脑组织 DNA,以其为模板扩增 *Bdnf*-p1、*Bdnf*-p2、*Bdnf*-p4 和 *Bdnf*-p6 基因。PCR 反应条件为:95 °C 预变性 30 s;95 °C 变性 5 s,60 °C 退火 30 s,共 40 个循环;融解(95 °C 5 s,60 °C 1 min,1 个循环),降温(50 °C 30 s,1 个循环)。以大鼠海马各区经 ChIP 后,提取的 2% 全染色质样本(2% Input 样本)为参照,按下式计算 HDAC3 的 2% Input 富集效率,即为 *Bdnf* 启动子与 HDAC3 的结合水平。

$$2\% \text{ Input 富集效率} = 2^{(Ct \text{ 2\% Input 样本} - Ct \text{ 大鼠海马各区组织样本})}$$

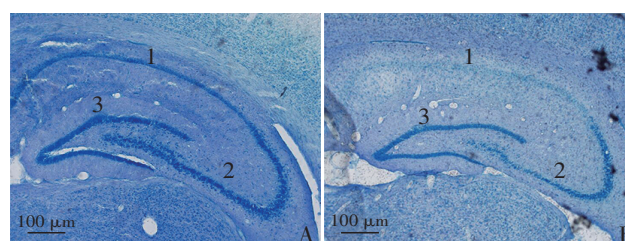
1.6 I/R 对大鼠海马中 BDNF-AS 表达水平影响的检测 采用 qPCR 法。根据 NCBI GenBank 数据库中登录的 *Bdnf* 基因(24255),应用 Primer 5 软件设计引物,*Bdnf*-AS F:5'-GTTCTTCGGGAATGTGGCTAA-3',R:5'-TGCTGTCTCTGTGGTCTGA-3';*GAPDH* F:5'-ATGGCTACAGCAACAGGCT-3',R:5'-TTATGGGGTCTGGGATGG-3'。引物由上海派森诺生物科技股份有限公司合成。用动物组织总 RNA 提取试剂盒提取两组大鼠脑组织总 RNA,反转录合成为 cDNA,以其为模板进行 PCR 扩增。PCR 反应条件同 1.5

项。以 *GAPDH* 为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 BDNF-AS 相对表达量。

1.7 统计学分析 应用 GraphPad prism 7 软件制作图片,SPSS 24.0 软件进行统计学分析,试验数据均采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间两两比较采用非配对 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 I/R 对大鼠海马中神经元存活的影响 与 Sham 组比较,I/R 组大鼠海马 CA1 区神经元数目大幅减少,CA3 区和 DG 区神经元数目变化较小,见图 1。



A: Sham 组; B: I/R 组。

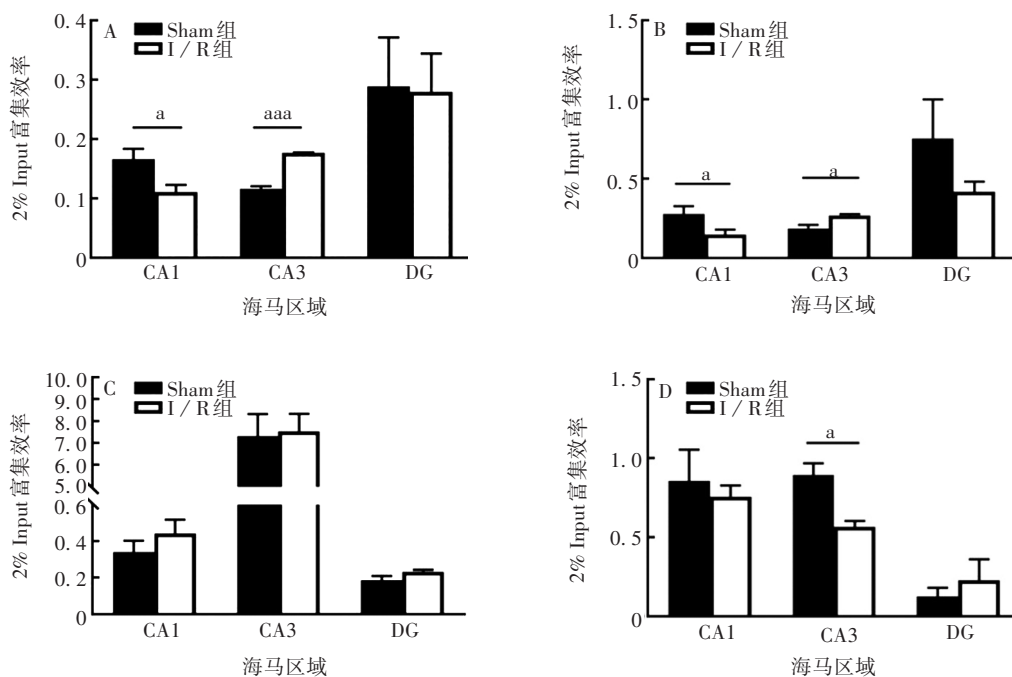
注:图中 1 为 CA1 区;2 为 CA3 区;3 为 DG 区。

图 1 大鼠海马区神经元的存活情况(尼氏染色)

Fig. 1 Survival of neurons in hippocampus of rats (Nissl staining)

2.2 I/R 对大鼠海马中 BDNF 启动子与 HDAC3 结合水平的影响 与 Sham 组比较,I/R 组大鼠海马 CA1 区中 *Bdnf*-p1 和 *Bdnf*-p2 与 HDAC3 结合水平明显降低(*t* 分别为 2.575 和 2.241, P 均 < 0.05), *Bdnf*-p4 和 *Bdnf*-p6 与 HDAC3 结合水平差异无统计学意义(*t* 分别为 1.033 和 0.348, P 均 > 0.05);CA3 区中 *Bdnf*-p1 和 *Bdnf*-p2 与 HDAC3 结合水平明显增加(*t* 分别为 12.600 和 3.191, P 分别 < 0.001 和 < 0.05), *Bdnf*-p6 与 HDAC3 结合水平明显降低(*t* = 4.029, $P < 0.05$), *Bdnf*-p4 与 HDAC3 结合水平差异无统计学意义(*t* = 0.175, $P > 0.05$);DG 区中 *Bdnf*-p1、*Bdnf*-p2、*Bdnf*-p4 和 *Bdnf*-p6 与 HDAC3 结合水平差异均无统计学意义(*t* 分别为 0.684、1.316、1.687、0.630, P 均 > 0.05)。见图 2。

2.3 I/R 对大鼠海马中 BDNF-AS 表达水平的影响 与 Sham 组比较,I/R 组大鼠海马 CA1 区中 BDNF-AS 的表达水平明显降低(*t* = 2.560, $P < 0.05$),在 CA3 及 DG 区的表达水平均明显升高(*t* 分别为 3.543 和 3.637, P 均 < 0.01),见图 3。

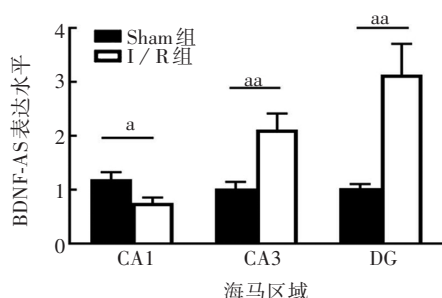


A: *Bdnf*-p1; B: *Bdnf*-p2; C: *Bdnf*-p4; D: *Bdnf*-p6。

注: a 表示 $P < 0.05$, aaa 表示 $P < 0.001$ 。

图 2 大鼠海马区 HDAC3 与 BDNF 启动子的结合水平

Fig. 2 Binding levels of HDAC3 to BDNF promoters in hippocampus of rats



注: a 表示 $P < 0.05$, aa 表示 $P < 0.01$ 。

图 3 大鼠海马区 BDNF-AS 的表达水平

Fig. 3 Expression level of BDNF-AS in hippocampus of rats

3 讨论

目前,虽然在预防和支持性治疗脑卒中方面已取得了一定进展,但还不能避免造成大脑的缺血性细胞死亡。缺血性损伤刺激会激活脑内多种自我保护机制,如 BDNF 表达增加、抗炎、抗氧化和抗兴奋毒性等^[13]。有研究表明,脑缺血后,BDNF 在缺血较敏感的海马 CA1 区表达水平降低,在缺血耐受的海马 CA3 和 DG 区则维持高水平^[14]。

Bdnf 由 1 个 3' 编码的外显子和 9 个 5' 非编码的外显子组成,不同启动子通过调控不同 *Bdnf* 转录本影响 BDNF 蛋白的翻译效能,进而调控 BDNF 蛋白的

表达^[15],其中,*Bdnf* 转录本 I、II、III 和 IV 在啮齿类和人之间高度保守,因此,本研究选取 *Bdnf* 转录本 I、II、III 和 IV 相应的启动子 *Bdnf*-p1、*Bdnf*-p2、*Bdnf*-p4 和 *Bdnf*-p6 探讨 *Bdnf* 转录本表达对表观遗传调控的作用机制,如组蛋白乙酰化、磷酸化、泛素化、甲基化等^[16],其中,组蛋白的乙酰化修饰是通过组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)和 HDACs 共同作用的结果。不同 HDACs 在海马区和神经元中表达水平不同,如包括 HDAC3 在内的 I 类、II 类 HDACs 在海马区均呈高表达^[17]。本研究发现,I/R 可影响 BDNF 不同启动子与 HDAC3 的结合水平,前期研究也发现,BDNF 不同启动子组蛋白乙酰化水平在 I/R 后会发生不同改变^[14],两项研究的结论相符。

LncRNAs 属于非编码 RNAs,通过 RNA 聚合酶 II 转录而来,通常由 5' 端帽状、剪接和 3' 端聚腺苷酸构成^[18]。LncRNAs 不仅是非编码 RNA 的重要组成部分,也是真核生物细胞核中重要的调控因子,可调节不同的基因表达^[19]。LncRNAs 根据调节方式可分为 3 类:转录型、表观遗传型和转录后型。其中,表观遗传型是通过诱导 DNA 和组蛋白甲基化、组蛋白乙酰化和泛素化来影响表观遗传修饰^[20]。LncRNAs 在转录位点募集相关的染色质修饰因子,可能通过区域、位点甚至等位基因的特异性方式来控制整个染色体的转录状态,这些复合物能形成一个局部染色质环

境,可促进或抑制其他调节因子的组装^[21]。BDNF-AS 可调控 BDNF 表达,促使相关神经元突起生长和保持神经元存活^[22],BDNF-AS 在神经元兴奋作用下,利用表观遗传机制调节 BDNF 表达,参与有关突触可塑性的形成。

本研究发现,I/R 大鼠 BDNF 不同启动子与 HDAC3 的结合水平与 BDNF-AS 表达相关。与 Sham 组比较,I/R 组大鼠海马中,BDNF-AS 在 CA1 区表达明显下降($P < 0.05$),可通过 HDAC3 在 *Bdnf*-p1 和 *Bdnf*-p2 的结合减少使 CA1 区神经元大量死亡;而 BDNF-AS 在 CD3 区表达明显上升($P < 0.01$),可通过 HDAC3 在 *Bdnf*-p1 和 *Bdnf*-p2 的结合增加使 CA3 区神经元存活。在 DG 区,I/R 组大鼠海马中 BDNF-AS 表达明显升高($P < 0.01$),与 *Bdnf*-p1、*Bdnf*-p2、*Bdnf*-p4、*Bdnf*-p6 和 HDAC3 的结合无关,可能与 BDNF-AS 募集其他表观遗传修饰酶并调控 BDNF 表达相关,具体作用机制需进一步深入研究。因此推测,在 BDNF-AS 的介导下,乙酰化修饰酶的动态平衡发生改变,使 BDNF 启动子区相关组蛋白乙酰化修饰发生不同改变,从而对海马多个脑区的神经元存活产生不同影响。

综上所述,I/R 大鼠海马 CA1、CA3 和 DG 区 *Bdnf* 启动子与 HDAC3 的结合水平存在差异,可能与 BDNF-AS 表达不同相关。本研究为缺血损伤后神经元 BDNF 表达调控机制的研究奠定了基础,也为脑卒中的临床治疗提供了新的思路。

参考文献

- [1] KOH S H, PARK H H. Neurogenesis in stroke recovery [J]. *Transl Stroke Res*, 2017, 8 (1): 3-13.
- [2] PENG T, JIANG Y, FARHAN M, *et al*. Anti-inflammatory effects of traditional chinese medicines on preclinical in vivo models of brain ischemia-reperfusion-injury: prospects for neuroprotective drug discovery and therapy [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 204.
- [3] LU D, WU Y, QU Y, *et al*. A modified method to reduce variable outcomes in a rat model of four-vessel arterial occlusion [J]. *Neurol Res*, 2016, 38 (12): 1102-1110.
- [4] TASKER R C, DUNCAN E D. Focal cerebral ischemia and neurovascular protection: a bench-to bedside update [J]. *Curr Opin Pediatr*, 2015, 27 (6): 694-699.
- [5] DENG P, ANDERSON J D, YU A S, *et al*. Engineered BDNF producing cells as a potential treatment for neurologic disease [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2016, 16 (8): 1025-1033.
- [6] CHEN K W, CHEN L. Epigenetic regulation of BDNF gene during development and diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 (3): 571.
- [7] MERIENNE K, BOUTILLIER A L. Epigenetic regulations and cerebral plasticity: towards new therapeutic options in neurodegenerative diseases? [J]. *Biol Aujourd'hui*, 2016, 210 (4): 297-309.
- [8] SHEN Y, WEI W, ZHOU D X. Histone acetylation enzymes coordinate metabolism and gene expression [J]. *Trends Plant Sci*, 2015, 20 (10): 614-621.
- [9] HA S D, HAM S, KIM M Y, *et al*. Transcription-dependent targeting of Hda1C to hyperactive genes mediates H4-specific deacetylation in yeast [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 4270.
- [10] USZCZYNSKA-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.
- [11] CHEN H, DU G, SONG X, *et al*. Non-coding transcripts from enhancers: new insights into enhancer activity and gene expression regulation [J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2017, 15 (3): 201-207.
- [12] GLOSS B S, DINGER M E. The specificity of long noncoding RNA expression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1859 (1): 16-22.
- [13] BENNION D M, STECKELINGS U M, SUMNERS C. Neuroprotection via AT(2) receptor agonists in ischemic stroke [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132 (10): 1055-1067.
- [14] LI J, YAN D, MA N, *et al*. Transient forebrain ischemia induces differential *Bdnf* transcript expression and histone acetylation patterns in the rat hippocampus [J]. *J Mol Neurosci*, 2020, 70 (4): 568-575.
- [15] ZHENG Y, FAN W, ZHANG X, *et al*. Gestational stress induces depressive-like and anxiety-like phenotypes through epigenetic regulation of BDNF expression in offspring hippocampus [J]. *Epigenetics*, 2016, 11 (2): 150-162.
- [16] JANCZURA K J, VOLMAR C H, WAHLESTEDT C. Purification of H3 and H4 histone proteins and the quantification of acetylated histone marks in cells and brain tissue [J]. *J Vis Exp*, 2018, 15 (141): 134-145.
- [17] DEMYANENKO S, NEGINSKAYA M, BEREZHNAYA E. Expression of class I histone deacetylases in ipsilateral and contralateral hemispheres after the focal photothrombotic infarction in the mouse brain [J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9 (5): 471-483.
- [18] QUINN J J, CHANG H Y. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17 (1): 47-62.
- [19] KHORKOVA O, HSIAO J, WAHLESTEDT C. Basic biology and therapeutic implications of lncRNA [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 87: 15-24.
- [20] LYU Y, BAI L, QIN C. Long non-coding RNAs in neurodevelopment and Parkinson's disease [J]. *Animal Model Exp Med*, 2019, 2 (4): 239-251.
- [21] ACHOUR C, AGUILO F. Long non-coding RNA and Polycomb: an intricate partnership in cancer biology [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2018, 23: 2106-2132.
- [22] SALVATORI B, BISCARINI S, MORLANDO M. Non-coding RNAs in nervous system development and disease [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 273.