

长链非编码 RNA 与肿瘤研究进展*

靳雪芹^{1,2}综述, 卢忠心^{1△}审校

(1. 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院检验科, 武汉 430014; 2. 江汉大学医学院, 武汉 430056)

摘 要:长链非编码 RNA(LncRNA)是一类发现于真核生物内,具有调节功能的长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA。目前已经发现约 3 500 种 LncRNA,它们广泛存在于哺乳动物基因组序列中。LncRNA 的主要功能是通过表观遗传学调控、转录调节、转录后调控等过程参与调控基因的表达。目前已经发现 LncRNA 的差异表达与某些肿瘤的发生、发展有关,不同肿瘤中差异表达的 LncRNA 可以作为新型的肿瘤标志物,并与化疗敏感性密切相关。LncRNA 作用机制的研究为开发新型治疗方法提供新的思路,如开发与 LncRNA 结合位点竞争的类似物、染色质重塑因子或 DNA。一些 LncRNA 的差异表达与某些肿瘤的发生、发展有关。本文就 LncRNA 与肿瘤的研究现状作一综述。

关键词:长链非编码 RNA; 肿瘤; 分子标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.12.024

文章编号:1673-4130(2018)12-1492-04

中图法分类号:Q752;R730

文献标识码:A

1 LncRNA 概述

功能基因组学的研究表明,只有不到 2% 的基因组编码蛋白质,而超过 98% 的基因组为非编码 RNA,包括以小干扰 RNA(siRNA)、微小 RNA(miRNA)等为代表的小 RNA 和长链非编码 RNA(LncRNA);LncRNA 长度超过 200 个核苷酸,是没有编码蛋白质功能的基因转录产物^[1]。LncRNA 与 miRNA 一样是由 RNA 聚合酶生成,在平均长度和多聚 A 尾信号所占百分比方面与 miRNA 分子存在共同的表现形式,但 LncRNA 缺乏长的进化保守的开放阅读框,并且无编码蛋白质功能^[1-2]。LncRNA 最初被视为基因转录过程中的“暗物质”,最近研究表明,它们在调节细胞生长和新陈代谢中起着重要的作用^[3]。在人体内大部分非编码 RNA 是 LncRNA。LncRNA 的表达存在时间及空间特异性,这进一步证实了 LncRNA 的表达是被严密调控的。LncRNA 具有转录干扰,染色体重排,组蛋白修饰,剪接修饰基因序列,蛋白质功能调节,参与小 RNA 的构建^[4]。总的来说,通过表观遗传学、转录调控及转录后调控 3 个层面 LncRNA 达到对其靶基因的调节^[5]。LncRNA 在生物体的生命活动中起着极为广泛的基因调控功能,它们参与的转录染色体失活、基因的表达和关闭,细胞周期和个体发育调控。研究表明肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭、迁移及药物敏感性与一些 LncRNA 的异常表达密切相关。

2 LncRNA 与肿瘤

近年来随着科学技术的不断发展,尤其是高分辨

率的微阵列芯片技术和高通量的全基因组测序技术的广泛应用对 LncRNA 的研究取得了重大进展,目前已发现多种 LncRNA 在不同肿瘤组织的表达具有显著差异性。在肿瘤发生发展过程中,LncRNA 参与调控多种生物功能而发挥重要的作用。

2.1 LncRNA 与乳腺癌 女性乳腺癌在我国每年新发病例的数量约 21 万,研究发现,乳腺癌细胞和组织中存在很多异常表达的 LncRNA,它们与乳腺癌疾病的发生、发展及药物敏感性密切相关,H19 印迹基因是第一个被发现的 LncRNA,它是由 c-myc 基因和肿瘤抑制基因 p53 缺乏直接诱导形成,是一个功能强大的致癌基因,也是一种在母系等位基因中稳定表达的致癌基因。多种实体瘤中可以发现 H19 的异常表达,它与女性雌、孕激素受体(ER/PR)有关联,受缺氧诱导因子 1(HIF-1)、p53、E2F1 等多种因子的调控,从而影响乳腺癌细胞增殖、侵袭、转移^[6]。HOX 转录反义基因间 RNA(HOTAIR)^[7]是又一乳腺癌相关的 LncRNA。有研究发现,HOTAIR 在乳腺癌原发肿瘤和转移灶中的转录水平存在明显差异,加速了乳腺癌的进展,HOTAIR 5'端功能域的异常表达与多梳蛋白复合物 2(PRC2)结合,诱导基因组对 PRC2 重新定位,导致连接黏附分子 2(JAM2)、细胞黏附分子原钙黏素(PCDH)、肝蛋白受体 1(EPHA1)等部分基因异常表达,导致细胞间黏附分离,促进肿瘤微血管形成,从而导致肿瘤细胞侵袭转移的发生,HOTAIR 在乳腺癌中的表达水平与疾病的转归密切相关。ROR 是

* 基金项目:江汉大学硕士研究生科研创新基金项目(010-2015-01);国家自然科学基金资助项目(81372325);湖北省自然科学基金重点项目(2015CFA078);湖北省科技支撑计划(对外科技合作类)(2015BHE022)。

△ 通信作者, E-mail: lzx71@yahoo.com。

本文引用格式:靳雪芹,卢忠心.长链非编码 RNA 与肿瘤研究进展[J].国际检验医学杂志,2018,39(12):1492-1495.

在诱导性多能干细胞中首次发现的 LncRNA^[8],它在乳腺癌组织中异常高表达,ROR 通过抑制 miRNA-205 下游靶基因 ZEB2 的表达,促进乳腺癌细胞上皮-间质转化(EMT),增加了乳腺癌细胞的迁移和侵袭能力;下调 ROR 表达可有效抑制乳腺癌细胞的生长及肺转移。AUGOFF 等^[9]发现 miRNA-31 是一种新型的 LncRNA,宿主基因为 LOC554202,受到启动子高甲基化调节的三阴型乳腺癌患者中 miRNA-31 和 LOC554202 基因表达异常,癌细胞侵袭转移能力得到加强。以 LncRNA 的形式存在的类固醇受体 RNA 激活因子(SRA)^[10]是通过激活转录类固醇激素受体激活蛋白(SRAP)发挥作用。SRA 决定乳腺癌具体表型,在乳腺癌的发生、发展过程中发挥重要作用。

2.2 LncRNA 与消化道肿瘤 胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一,在我国每年大约 17 万人死于胃癌,相当于所有恶性肿瘤死亡人数的四分之一。SUN^[11]研究发现,LncRNA AC096655.1-002 在胃癌组织中表达降低,它与肿瘤的 TNM 分期密切相关,其表达水平在预测胃癌的远处转移、分化和侵袭深度中发挥着重要作用。此外,YANG^[12]发现,LncRNA 结肠癌相关转录因子 1(CCAT1)在胃癌组织中表达升高,且 CCAT1 与胃癌细胞的增殖和迁移密切相关。

肝细胞癌(HCC)是恶性程度极高的消化道恶性肿瘤,具有预后差、易复发和远处转移的特点。对于 LncRNA 在肝癌发生和发展作用的研究也是一个热点领域。YANG 等^[13]通过研究与乙型肝炎病毒相关的 HCC 患者肿瘤与瘤旁组织之间差异表达的 LncRNA,发现与乙型肝炎病毒(HBV)有关的肝癌标本中存在高表达 LncRNA(称为 LncRNA HEIH)。HEIH 在 HBV 相关 HCC 中的表达水平与复发密切相关,是一种生存的独立预后因素。HEIH 与 zeste 同源物增强子 2(EZH2)相关,HEIH 高表达通过增强子 EZH2 促进肿瘤的生长,从而影响细胞增殖。在肝癌细胞中下调 HEIH 表达能够使肝癌细胞的细胞周期停滞在 G₀/G₁ 水平,使肿瘤细胞增殖功能降低。YANG 等^[13]发现,LncRNA LET 的表达下调与多种肿瘤在低氧环境的转移密切相关,体内外实验研究发现,LncRNA LET 可以显著减少肝癌细胞侵袭转移能力。LIANG 等^[14]发现,LncRNA CCAT1 在肝组织表达水平明显低于肝癌组织,CCAT1 通过竞争性抑制分子 Let-7 的内源性靶基因 HMGA2 和 c-myc 结合,对抗了分子 Let-7 对其靶基因的抑制作用,导致肝癌细胞的增殖和迁移增强。研究发现上调 CCAT1 表达水平与肿瘤大小、微血管浸润及不良预后呈正相关,肝癌细胞的侵袭转移能力增强,在恢复了 Let-7 的作用后 CCAT1 的生物学功能作用明显减弱。YUAN 等^[15]通过一项研究发现,LncRNA-AT 通过竞争性结合 miRNA-200s 家族,增强肝癌细胞的侵袭能力,主要是通过上调 ZEB1 和 ZEB2 诱导上皮间质

化(EMT)。LncRNA -AT 通过结合 IL-11 mRNA,增加 IL-11 mRNA 的稳定性从而能促进内源性 IL-11 的产生,激活 STAT3 信号通路,促进肝癌细胞种植和远处转移。

结直肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,起源于结直肠黏膜上皮。RINN 等^[16]利用基因芯片技术分析 11 种结直肠成纤维细胞时发现了具有反式转录调控作用的 LncRNA HOX 转录反义 RNA(HOTAIR)基因,它是一个长度为 2.2 kb 的非编码基因,存在于哺乳动物 12q13.13 的 HOXC 位点,无蛋白质编码功能。HOTAIR 在乳腺癌组织中明显上调,与正常乳腺组织相比高出两千倍,它与乳腺癌的转移和预后密切相关。YANG 等^[17]发现结直肠癌患者癌组织中 HOTAIR 高表达,且在高侵袭性及耐辐射结直肠癌患者中 HOTAIR 高表达;HOTAIR 高表达的患者预后较差。HOTAIR 作为标志物在结直肠癌肝转移患者中起着重要的临床指导作用。人肺腺癌转移相关转录本基因 MALAT-1 被发现结直肠癌、胰腺癌、前列腺癌和乳腺癌等癌组织中高表达,HU 等^[18]通过体外和体内试验研究发现 LncRNA MALAT-1 通过上调 SRPK1 催化的 SRSF1 磷酸化作用增加 AKAP-9 表达从而促进结直肠癌细胞增殖、浸润和转移。肝癌高表达基因 HULC 是一种在肝癌细胞中高表达在正常肝细胞中低表达的 LncRNA。YANG 等^[19]通过 RNA 免疫沉淀反应和下调 HULC 基因表达试验来证明 HULC 基因通过与 EZH2 相互作用来抑制其靶基因 NKD2 转录。此外,通过补救实验确定 HULC 的致癌作用是通过抑制 NKD2 表达来实现。再次说明 LncRNA HULC 通过表观遗传学水平抑制 NKD2 表达来促进结直肠癌细胞的增殖、迁移和入侵,同时 HULC 的高表达还与结直肠癌患者的不良预后和低生存率呈正相关。MATOUK 等^[20]发现,HULC 仅在结直肠癌肝转移细胞中存在,正常结肠细胞和原位结直肠癌细胞中无该 LncRNA 的表达,LncRNA HULC 与结直肠癌淋巴结转移无关。在结直肠癌细胞转移到肝脏的过程中 HULC 很可能发挥了重要作用。

2.3 LncRNA 与呼吸系统肿瘤 肺癌是目前全世界发病率和病死率最高的恶性肿瘤。研究发现 MALAT-1、H19、LncRNA p21、LncRNA-SCAL1 与肺癌的侵袭、转移、临床分期及预后有密切关系。MALAT-1 是在非小细胞肺癌(NSCLC)研究和临床应用最为广泛的 LncRNA,MALAT-1 位于染色体 11q13,基因长度大约为 8.7 kb。SCHMIDT 等^[21]通过 RNA 干扰和过表达技术进行实验,提出 MALAT-1 能诱导肿瘤生长和转移,并且和 NSCLC 患者不良预后有关。H19 是首个被发现具有基因印记功能的 LncRNA,也是首个被发现与癌症有关的 LncRNA,本文在乳腺癌中已提及。HUARTE^[22]发现在肺癌细胞中这些共同

的表达基因均参与了细胞周期停滞和细胞凋亡。LncRNA-SCAL1 位于 5 号染色体, 初始序列分析提示其含有 4 个外显子和 3 个内含子, 研究提示 SCAL1 的表达受到 NRF2 转录调控。在沉默 NRF2 基因后 SCAL1 的表达量也会随之下调。

2.4 LncRNA 与泌尿系统肿瘤 近年来对于 LncRNA 在泌尿系统肿瘤的研究日益增多, 发现前列腺癌中雄激素敏感 LncRNA CBR3-AS1 和 CTBP1-AS 间接地调节雄激素受体及下游基因的表达。CBR3-AS1 是羧基还原酶 3 (CBR3) 基因反义编码的 3 个 LncRNA 之一。与正常组织和良性前列腺增生组织相比, CBR3-AS1 在原发性肿瘤及前列腺癌细胞中高表达。在雄激素敏感及非敏感的前列腺癌细胞, CBR3-AS1 的沉默导致 AR 下调、细胞增殖减少并诱导细胞凋亡, 这表明 CBR3-AS1 也可作为前列腺癌新的治疗靶点^[23]。转移相关的肺腺癌转录体 1 (MALAT1) 最早在 NSCLC 的研究中被报道, 正常组织中也广泛表达。在膀胱癌、肾癌及部分前列腺癌中明显上调。MALAT1 过度表达于尿路上皮癌; 诱导细胞增殖、迁移; 并通过激活体外 WNT 信号促进上皮-间质之间的转化。在肾细胞癌中, MALAT1 与 TFEB 编码序列相融合, TFEB 在不同的细胞系谱中作为转录因子调控关键的生长途径。MALAT1 与 TFEB 融合后保留了整个 TFEB 编码序列, 导致 TFEB 蛋白水平显著升促进肿瘤进展。MALAT1 与牛磺酸调节基因 1 编码的 LncRNA 相结合, 调节细胞核间多梳抑制复合物的往复运动从而导致生长控制基因的激活或抑制。CRAWFORD 等^[24]通过对美国 1 962 例前列腺特异性抗原 (大于 2.5 g/mL) 患者尿液标本中前列腺癌抗原 3 (PCA3) 含量检测的前瞻性多中心研究发现, PCA3 为无创性前列腺癌诊断的尿液标志物, 诊断效果明显优于组织侵入性检查。ZHANG 等^[25]研究发现, LncRNA-HCG11 在前列腺癌组织标本中的表达水平显著低于癌旁组织, 患者体内 HCG11 的表达水平与其年龄、术前 PSA 水平、格里森评分、淋巴结是否转移及复发率密切相关。另外, 前列腺癌患者组织低表达的 HCG11 对前列腺癌患者的不良预后有一定的预测意义。HE 等^[26]发现, LncRNA-BANCR 在膀胱癌组织标本中的表达水平显著低于癌旁组织, 低表达的 BANCR 与膀胱癌患者的临床分期密切相关; BANCR 在 2 种膀胱癌细胞系 T24 和 SW780 中的表达水平同样显著降低, 当在上述 2 种细胞系中转染了 LncRNA-BANCR 的过表达质粒后发现 LncRNA-BANCR 能显著抑制膀胱癌细胞的增殖和促进细胞凋亡。

3 结 语

LncRNA 在肿瘤发生、发展中的调控机制逐渐被研究证实, 然而对 LncRNA 的研究尚处于初级阶段, 仍存在许多难题需要攻克, 包括怎样通过特异性基因

表达谱来判断疾病的临床分期, 用于肿瘤早期诊断; 怎样才能做到微创或者无创检测; 怎样持续干预 LncRNA 表达用于肿瘤治疗等。随着新技术的开发与改进, 特异性基因数据库的不断完善, 以 LncRNA 为基础的临床工具将运用于临床, 包括作为诊断和预后的生物标志物及作为治疗靶点, LncRNA 功能及作用机制的研究成果在不久的将来有望转化为应用于肿瘤早期诊断、判断预后及治疗的新工具, 使癌症患者从中获益, 这也是未来肿瘤治疗的研究方向之一。

参考文献

- [1] CHENG J, KAPRANOV P, DRENKOW J, et al. Transcriptional maps of 10 human chromosomes at 5-nucleotide resolution[J]. *Science*, 2005, 308(5725): 1149-1154.
- [2] WU Q, KIM YC, LU J, et al. Poly A- transcripts expressed in HeLa cells[J]. *PLoS One*, 2008, 3(7): e2803.
- [3] KAPRANOV P, ST LAURENT G, RAZ T, et al. The majority of total nuclear-encoded non-ribosomal RNA in a human cell is 'dark matter' unannotated RNA[J]. *BMC Biol*, 2010, 8: 149.
- [4] BIRNEY E, STAMATOYANNOPOULOS J A, DUTTA A, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project[J]. *Nature*, 2007, 447(7146): 799-816.
- [5] MERCER T R, DINGER M E, MATTICK J S. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3): 155-159.
- [6] SHORE A N, HERSCHKOWITZ J I, ROSEN J M. Non-coding RNAs involved in mammary gland development and tumor genesis: there's a long way to go[J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2012, 17(1): 43-58.
- [7] GUPTA R A, SHAH N, WANG K C, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis[J]. *Nature*, 2010, 464(7291): 1071-1076.
- [8] HOU P, ZHAO Y, LI Z, et al. LincRNA-ROR induces epithelial-to-mesenchymal transition and contributes to breast cancer tumor igenesis and metastasis [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1287.
- [9] AUGOFF K, MCCUE B, PLOW E F, et al. miR-31 and its host gene lncRNA LOC554202 are regulated by promoter hypermethylation in triple-negative breast cancer[J]. *Mol Cancer*, 2012, 11(1): 5.
- [10] BEATO M, VICENT G P. A new role for an old player: steroid receptor RNA activator (SRA) represses hormone inducible genes [J]. *Transcription*, 2013, 4(4): 167-171.
- [11] SUN W. Decreased expression of long noncoding RNA AC096655.1-002 in gastric cancer and its clinical significance[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(5): 2697-2701.
- [12] YANG F. Long noncoding RNA CCAT1, which could be activated by c-Myc, promotes the progression of gastric carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013, 139(3): 437-445.

[13] YANG F, ZHANG L, HUO X S, et al. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans[J]. Hepatology, 2011, 54(5): 1679-1689.

[14] LIANG D, YANG S B, XU F F, et al. Long noncoding RNA CCAT1 promotes hepatocellular carcinoma progression by functioning as let-7 sponge[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 34(1): 18.

[15] YUAN J H, YANG F, WANG F, et al. A long noncoding RNA activated by TGF- β promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Cell, 2014, 25(5): 666-681.

[16] RINN J L, KERTESZ M, WANG J K, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs[J]. Cell, 2007, 129(7): 1311-1323.

[17] YANG X D, XU H T, XU X H, et al. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR inhibits proliferation and invasiveness and improves radio sensitivity in colorectal cancer[J]. Oncol Rep, 2016, 35(1): 479-487.

[18] HU Z Y, WANG X Y, GUO W B, et al. Long non-coding RNA MALAT1 increases AKAP-9 expression by promoting SRPK1-catalyzed SRSF1 phosphorylation in colorectal cancer cells [J]. Oncotarget, 2016, 7 (10): 11733-11743.

[19] YANG X J, HUANG C Q, PENG C W, et al. Long non-coding RNA HULC promotes colorectal carcinoma progression through epigenetically repressing NKD2 expression[J]. Gene, 2016, 592(1): 172-178.

[20] MATOUK I J, ABBASI I, HOCHBERG A, et al. Highly upregulated in liver cancer noncoding RNA is overexpressed in hepatic colorectal metastasis[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2009, 21(6): 688-692.

[21] SCHMIDT L H, SPIEKER T, KOSCHMIEDER S, et al. The long noncoding MALAT-1 RNA indicates a poor prognosis in non-small cell lung cancer and induces migration and tumor growth[J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(12): 1984-1992.

[22] HUARTE M. The emerging role of lncRNAs in cancer [J]. Nat Med, 2015, 21(11): 1253-1261.

[23] CUI Z, REN S, LU J, et al. The prostate cancer-up-regulated long noncoding RNA PlncRNA-1 modulates apoptosis and proliferation through reciprocal regulation of androgen receptor[J]. Urol Oncol, 2013, 31(7): 1117-1123.

[24] CRAWFORD E D, ROVE K O, TRABULSI E J, et al. Diagnostic performance of PCA3 to detect prostate cancer in men with increased prostate specific antigen: a prospective study of 1,962 cases[J]. J Urol, 2012, 188(5): 1726-1731.

[25] ZHANG Y, ZHANG P, WAN X, et al. Downregulation of long non-coding RNA HCG11 predicts a poor prognosis in prostate cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83: 936-941.

[26] HE A, LIU Y, CHEN Z, et al. Over-expression of long noncoding RNA BANCR inhibits malignant phenotypes of human bladder cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35(1): 125.

(收稿日期: 2018-01-19 修回日期: 2018-03-24)

• 综 述 •

关节假体感染细菌生物膜病原菌检测方法的研究进展*

王丽娟^{1,2}, 杨培丽^{1,2}, 王奕翔^{1,2} 综述, 王勇平^{1△} 审校

(1. 兰州大学第一医院骨科, 兰州 730000; 2. 兰州大学第一临床医学院, 兰州 730000)

摘要:目的 人工关节置换术现多用于终末期关节疾病的治疗, 但关节置换术后出现的假体感染是常见并较为严重的并发症, 同样是导致关节置换手术失败的常见原因之一。细菌生物膜的形成是关节置换术后感染的重要原因, 然而对感染病原的诊断至今仍然存在许多困难。该文主要对人工关节假体感染细菌生物膜的检测方法进行综述。

关键词: 关节置换; 假体感染; 细菌生物膜; 检测方法
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2018. 12. 025 **中图法分类号:** R378; R619
文章编号: 1673-4130(2018)12-1495-04 **文献标识码:** A

人工关节置换术现多用于终末期关节疾病的治疗, 但关节置换术后出现的假体感染是常见并较为严重的并发症, 同样是导致关节置换手术失败的常见原因之一^[1]。目前, 关节假体感染的诊断及治疗尚未取

* 基金项目: 甘肃省卫生行业科研计划项目(GSWSHY-2015-53)。
△ 通信作者, E-mail: wangyp312@163. com。
本文引用格式: 王丽娟, 杨培丽, 王奕翔, 等. 关节假体感染细菌生物膜病原菌检测方法的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(12): 1495-1498.