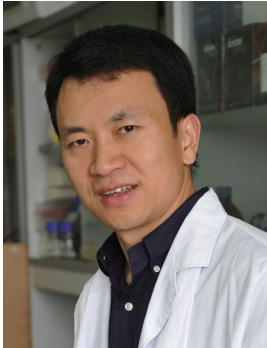


DOI: 10.13376/j.cblls/2018024

文章编号: 1004-0374(2018)02-0178-09



宋旭, 四川大学生命科学学院教授、博士生导师, “蛋白质机器与生命过程调控”国家重点研发计划首席科学家。1999年博士毕业于中国协和医科大学, 同年7月进入美国耶鲁大学分子生物物理与生物化学系做博士后, 2002年起任耶鲁大学分子生物物理与生物化学系 Associate Research Scientist、Research Assistant Professor。2006年离开耶鲁大学被引进到四川大学任教授。从1999年起, 开始研究长非编码RNA的作用机制及生理病理意义。在国际上, 最早报道了长非编码RNA与蛋白质相互作用参与肿瘤发生发展的机制 (Song et al. *PNAS* 2004)。回国后, 于2009年在*PNAS*发表的2篇论文 (Li et al. *PNAS* 2009, Wang et al. *PNAS* 2009) 是国内研究者在长非编码RNA领域发表的最早的2篇研究性论文。



吴传芳, 博士, 现任四川大学生命科学学院副教授、硕士生导师, 四川省遗传学会秘书长。2000年毕业于四川大学生命科学学院, 同年保送本校研究生, 2006年获四川大学理学博士学位后留校任教至今, 自工作以来一直从事肿瘤相关非编码RNA、蛋白质的筛选、鉴定及作用研究, 先后主持国家自然科学基金、教育部博士点基金、四川省科技支撑项目等多项, 已在国内外期刊上发表论文五十余篇, 申请国家发明专利十余项。教学方面主要讲授《基因工程》、《分子生物学》、《分子生物学实验》等, 主持课程先后被评为“四川省精品课程”、“四川省精品资源共享课”等, 获得国际级、省级、校级和院级教学奖励二十余项。

长非编码RNA与肿瘤

李 佳, 陈 娇, 宋 旭*, 吴传芳*

(四川大学生命科学学院, 成都 610064)

摘 要: 长非编码RNA的广泛存在, 在改变人们对分子生物学认知的同时, 也改变了对肿瘤等疾病发生机制的看法。肿瘤全基因组突变测序分析发现, 非编码区域的突变比遗传密码子区域的突变更能影响疾病的发生。因为长非编码RNA发挥着精准的调控功能, 它们可与各种调控因子相互作用, 促进肿瘤等疾病的发生, 因此, 长非编码RNA可作为临床诊断的标志物和治疗靶点。现将从基因的表达与调控的角度出发, 介绍长非编码RNA影响肿瘤发生发展的分子机制。

关键词: 长非编码RNA; 肿瘤; 作用机制; 基因的表达与调控; 诊断标志物

中图分类号: Q522; R730.231 **文献标志码:** A

The long noncoding RNAs and tumor

LI Jia, CHEN Jiao, SONG Xu*, WU Chuan-Fang*

(College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

收稿日期: 2017-11-16; 修回日期: 2017-12-05

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31371325)

*通信作者: E-mail: wuchuanfang@scu.edu.cn (吴传芳); E-mail: xusong@scu.edu.cn (宋旭)

Abstract: The wide existing of long noncoding RNA changed both our understanding of the molecular biology and the view of diseases mechanism such as tumor. Tumor genome mutations sequencing analysis found that mutations in noncoding regions can affect the occurrence of diseases more extensively than that in genetic codon. Because the long noncoding RNAs, which show precise regulatory functions, may drive tumor development by interacting with a variety of regulatory factors, the long noncoding RNAs may become the clinical diagnostic markers and therapeutic targets. This article from the perspective of gene expression and regulation, introduced how long noncoding RNAs influence the tumor occurrence and development.

Key words: long noncoding RNA (lncRNA); tumor; mechanism; gene expression and regulation; diagnostic markers

DNA 双螺旋结构的发现, 奠定了现代分子生物学的基础; 而“中心法则”的确定, 则证实了蛋白质是遗传物质 DNA 的表现形式; 随后, 基因工程技术的飞速发展更显示出基因的重要性及人类对探索新基因的迫切需要。于是, 人类基因组计划应运而生, 旨在测定人类核苷酸序列, 破译遗传信息, 以助于研究人类起源进化以及生老病死^[1]。可是, 出乎意料的是, 人类基因组上竟仅有不到 3% 的基因可编码成蛋白质。随着研究的深入, 长非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA), 即一类长度大于 200 nt 且不能编码成蛋白质的 RNA, 逐渐进入人们的视野。从 2008 年开始, *Nature*、*Science*、*Cell* 等权威杂志开始出现 lncRNA 的综述, 表明 lncRNA 的重要性得到了国际上普遍认可。至今已证实了 lncRNA 不仅影响胚胎的生长发育^[2], 参与各器官组织功能的维持^[3-4], 调控免疫系统的稳定^[5], 保护端粒结构的完整^[6], 更与肿瘤的发生发展相关^[7-11]。

通常所说的 lncRNA 是指不包括核糖体 rRNA 的狭义的 lncRNA, 人可转录高达 20 万种以上。lncRNA 的种类虽多, 但是大部分在细胞中的拷贝数却比较低, 有些甚至几个细胞才含有一个拷贝^[12]。lncRNA 的分类是基于当时认为碱基数大于 200 nt 的 RNA 就能形成各种复杂的高级结构, 以此可与小 RNA 进行区分。但事实上, RNA 的碱基数在 50~70 nt 时, 就可以形成一些复杂的结构, 如穹窿体这个细胞器, 它主要由蛋白质和 4 种穹窿体 RNA (vault RNA, vtRNA) 构成, 这 4 种 vtRNA 长度均在 80 nt 左右, 它们的碱基序列差异很小, 主要的差别就在于 20~60 nt 处所形成的二级结构有所不同^[13]。lncRNA 可以由 mRNA 的反义链转录而来, 由启动子区域转录而来, 也可以由内含子区域转录而来, 还可以由基因间区域转录而来……总之, 基因组上的任何地方都可能转录出 lncRNA。一部分 lncRNA 由 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, polII) 转录,

因此, 转录的初产物 5' 端含有 m⁷G(5')ppp(5')N 的帽子结构, 3' 端有 poly(A) 尾结构, 成熟 lncRNA 经剪切和拼接后, 结构可能会发生变化, 如 lncRNA NEAT1 (nuclear enriched abundant transcript 1), 它由 polII 合成, 但是, 成熟的 NEAT1 并没有 poly(A) 尾结构^[14]; 还有一部分 lncRNA 是由 RNA 聚合酶 III (polIII) 合成的, 它们的 3' 端没有 poly(A) 尾, 5' 端的结构也与 polII 转录的 lncRNA 有一定的差异, 如参与调控正向转录延伸因子 P-TEFb 的 lncRNA 7SK^[15-16], 它没有 poly(A) 尾, 而 5' 端却有一个帽子结构的类似物^[17]。

肿瘤从根本上说是基因型的疾病, 蛋白质遗传密码子突变的发现是人们了解这些突变驱动肿瘤发生机理的突破口, 从而对恶性肿瘤 (如黑色素瘤) 靶向治疗建立科学的原则^[18]。然而, 基因组上 97% 以上的序列不编码, 似乎非编码部分具有更大的潜能来驱动肿瘤的特征, 并且已有证据表明若非编码区域发生变化, 足以影响基因的表达与调控功能, 导致肿瘤的形成^[19]。近些年, 随着研究的深入, 无论是非编码基因的突变, 还是表观遗传的改变, 抑或是基因组结构的变化等同样可以驱使肿瘤的产生。从基因的表达与调控过程的角度来说, 肿瘤细胞的基因表达与调控是异于正常细胞的, 因而使之具有无限增殖的能力, 甚至发生侵袭转移。本文将主要介绍 lncRNA 在基因的表达与调控中如何影响肿瘤的发生与发展。

1 lncRNA 参与基因的表达与调控

1.1 染色质水平调控

lncRNA 对染色质的调控主要是影响染色质的结构, 从而改变基因的表达, 如与染色体重塑因子复合物相互作用, 使得染色质发生重塑 (chromatin remodeler, CR), 激活或沉默基因的表达, 影响疾病的发生^[20]; 通过减少核小体在基因启动子区的定位, 维持该基因表达的抑制状态, 导致疾病的产生^[21-22];

还可以通过表观遗传学方式,使得染色体被甲基化修饰,抑制基因的表达^[23]。而这些被抑制表达的基因通常都是肿瘤抑制蛋白,因其表达受到抑制,从而促进肿瘤的发生。

lncRNA 在染色质水平调控的作用方式大致可以分为两种:顺式调控 (*cis-regulatory*) 和反式调控 (*trans-regulatory*)。

顺式调控一般是指 lncRNA 对其转录区域相邻的基因起调控作用。最经典的例子莫过于 X 染色体失活特异转录物 (X-inactive-specific transcript, Xist)。在雌性哺乳动物细胞核中的巴氏小体,其实是一条浓缩状的 X 染色体,因细胞发生剂量补偿效应,使得 X 染色体随机失活而形成的。X 染色体失活 (XCI) 主要是由 lncRNA Xist 通过顺式作用来完成的。Xist 是一条由 X 染色体转录而来的长为 17~20 kb 的 RNA,它在失活的起始阶段就开始包裹着该条 X 染色体,通过与多梳蛋白抑制复合物 2 (PRC2) 相互结合,使得组蛋白 H3K27 的位置上发生三甲基化 (H3K27me3),进而影响该染色体的转录使之沉默^[24]。

再比如,INK4 蛋白是一个肿瘤抑制因子,其基因座反义链转录出来 lncRNA ANRIL (antisense non-coding RNA in the INK4 locus) 对 INK4 α /INK4 β 的表达也是顺式调控^[25]。lncRNA ANRIL 能与 Chromo 结构域同系物 7 (CBX7) 结合,CBX7 是 PRC1 与 PRC2 复合物的组成成员,lncRNA ANRIL 与 CBX7 的结合使得该基因座组蛋白发生甲基化修饰,顺式抑制 INK4 β 的表达^[26]。lncRNA ANRIL 最初是在遗传性神经系统肿瘤中发现缺失,经研究发现该 RNA 在遗传性皮肤黑色素瘤中也表达异常^[27]。

起反式调控作用的 RNA 与顺式的不同,RNA 与被调控的基因往往位于不同染色体上或者两者在同一染色体上但相距较远。最有名的一个例子莫过于 lncRNA HOTAIR (HOX transcript antisense RNA)。它是由 12 号染色体上 *HOXC* 基因座转录而来的一条长为 2.1 kb 的 lncRNA,其 5' 端可以结合多梳蛋白复合体 PRC2,从而使得位于 2 号染色体上的 *HOXD* 基因座区域内组蛋白受到表观遗传学修饰发生 H3K27me3,致使 *HOXD* 基因表达沉默^[28]。在肺癌中,HOTAIR 的表达量较高,它就是通过与 PRC2 复合物相互结合,使得肿瘤抑制基因上发生 H3K27me3,进而沉默表达;但是,对 HOTAIR 和 PRC2 相互结合的机制目前了解的还不够清楚,透彻掌握其相互结合的机理,也许可以成为今后癌症

医疗的新策略^[29]。

当然,也有些非编码 RNA 既可以顺式调节也可以反式调控,以发挥不同的功能,如由端粒转录产生的含有重复序列的 lncRNA TERRA (telomeric repeat-containing RNAs)。端粒位于线性染色质两端,若异常往往会引起衰老或引发肿瘤等疾病。早前的研究已经指出,lncRNA TERRA 与端粒蛋白一起在染色质的末端构成了一个类似“帽子”的结构,从而保护染色体的完整性^[30-31]。近期一项研究指出,TERRA 不仅可以顺式作用于相邻的端粒,调节端粒酶的活性,还可以反式作用于其他基因,与 RNA 解旋酶 ATRX 相互拮抗,进而影响其目的基因的表达^[6]。

1.2 转录水平调控

lncRNA 对基因转录水平的影响主要是通过转录因子来实现的。下面将举一些实例来阐述。

小鼠逆转座子 VL30 可以改变 PSF (polypyrimidine tract binding protein-associated splicing factor) 蛋白的构象,应该是最早发现可直接与蛋白质相互结合的非编码 RNA 了。PSF 蛋白可抑制多种原癌基因的表达,从而抑制肿瘤细胞的增殖与迁移;PSF 蛋白在结构上有两个 RNA 结合区域 (RNA binding domain, RBD) 和一个 DNA 结合区域 (DNA binding domain, DBD)^[32-33]。在正常情况下,PSF 蛋白的 DNA 结合区域可以结合在靶基因的启动子上,抑制靶基因的表达,但是,当 VL30 存在时,PSF 蛋白的 RNA 结合区域与 VL30 结合,从而改变 PSF 蛋白的构象,使之不能再结合在基因的启动子,靶基因得以表达^[34]。

实体瘤的一个特性就是缺氧,恶性肿瘤在缺氧环境下会加速生长并转移。由一个 α 亚基和一个 β 亚基组成的低氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1) 是细胞应对低氧环境下的调节因子。细胞在缺氧环境下,HIF-1 会定位在细胞核内,处于它靶基因的启动子上,激活靶基因的转录^[35]。而 HIF-1 的靶基因与肿瘤的发生发展相关,如糖酵解、能量代谢、细胞的迁移等^[35-36]。lncHIFCAR (long noncoding HIF-1 α co-activating RNA) 似乎揭示了 HIF-1 激活下游基因的机理。lncHIFCAR 的表达量在缺氧条件下是正常情况下的 2 倍,它可与 HIF-1 α 相互结合定位于靶基因的启动子上,同时招募 HIF-1 和转录辅因子 P300 共同作用,激活下游基因的表达^[9]。

1.3 转录后水平调控

lncRNA 对基因转录后水平的调控主要是影响 RNA 的可变剪切、RNA 的稳定性及翻译的进行。

1.3.1 影响RNA的可变剪切

真核生物基因转录成 pre-mRNA 后, 其内含子会被剪切掉, 外显子则通过不同的方式进行拼接, 称之为可变剪切。因此, 一个基因可编码成不同的蛋白质。在人类细胞中有高达 95% 以上的基因存在着可变剪切, 使得同一个基因可在不同的细胞和组织中表达出不同的蛋白质^[37-38]。担任可变剪切角色的是核糖核蛋白 (small nuclear ribonucleoproteins, snRNPs)、富含丝氨酸 / 精氨酸的核内磷酸化蛋白质家族 (serine/arginine-rich (SR) family of nuclear phosphoproteins, SR proteins) 和其相关蛋白, 以及细胞核内不均一蛋白质 (heterogeneous nuclear ribonucleoproteins, hnRNPs)^[39-40]。其中 SR 蛋白家族调控可变剪切是通过其自身磷酸化的状态来实现的^[41]。肺癌相关转录子 1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 是一个长度约为 8.7 kb 的 lncRNA, 最初是在肺癌患者的肿瘤细胞中筛选出来的, 它保守性高, 存在于细胞核内的旁斑 (speckles) 中。早期的研究指出 MALAT1 与肿瘤细胞的转移相关, 后来发现在正常细胞中, MALAT1 参与基因的可变剪切。MALAT1 可将磷酸化的 SR 蛋白定位在旁斑和核质中, 招募并调节 pre-mRNA, 完成可变剪切; 若在细胞中敲除 MALAT1, 细胞核内的 SR 蛋白总量增加, 但磷酸化的 SR 蛋白量减少, 改变原来的剪切位点, 因而使得基因的表达发生变化^[42]。

1.3.2 影响mRNA的稳定性

lncRNA 还能影响 mRNA 的稳定性, 如 gadd7 (growth-arrested DNA damage-inducible gene 7), 它是一个长为 754 nt 的 lncRNA。研究发现, 当细胞经 UV 射线等方式造成基因组 DNA 损伤后, gadd7 的表达量会增加, 与 TDP-43 蛋白 (TAR DNA-binding protein) 相互结合, 打断原本 TDP-43 蛋白与周期蛋白依赖性激酶 6 (cyclin-dependent kinases6, CDK6) 的 mRNA 的结合, 进而导致该 mRNA 的稳定性降低, 加速降解^[43], 从而使细胞生长速度受到抑制^[44]。

还有一种类型的 RNA 叫做竞争性内源 RNA (competitive endogenous RNA, ceRNA), 它们对基因表达的调控也是在转录后水平进行, ceRNA 可以是假基因、编码基因, 也可以是非编码 RNA^[45-46]。众所周知, microRNA 是一类长度为 22 nt 左右的小 RNA, 它们有自己的应答元件 (MREs), 通过碱基互补配对的方式来影响 mRNA 的稳定或使其降解。ceRNA 正好也可以与 microRNA 的应答元件相互匹配, 从而竞争性地结合 microRNA, 进而影响基因

的表达与调控^[45]。

1.3.3 影响mRNA的翻译

lncRNA 对 mRNA 翻译的影响主要是通过改变核小体来实现的, 如基因间 lncRNA lincRNA-p21, 最早发现这个 lncRNA 是因为它可以调控 P53 蛋白, 经 P53 途径来抑制基因的表达^[47]。后来发现, lincRNA-p21 还影响着 mRNA 的翻译。HuR 蛋白是一个 RNA 结合蛋白, 它可与 mRNA 结合, 通过 PI3K-AKT-NFκB 等信号途径参与细胞的各种应答、炎症反应及肿瘤形成等。现研究表明, HuR 蛋白与结直肠癌、胃癌、乳腺癌等肿瘤的发生、侵袭及转移有关^[48-50]。当细胞中存在 HuR 蛋白时, lincRNA-p21 会变得不稳定, HuR 蛋白结合在 mRNA (如 CTNNB1 mRNA 和 JUN mRNA) 上, 使得核糖体能够顺利地结合在该 mRNA 上, 促进翻译的进行; 若细胞中缺少 HuR 蛋白, lincRNA-p21 会变得稳定且数量增多, 然后通过碱基互补配对结合在 mRNA 上, 使得与核糖体结合的位点减少, 抑制该 mRNA 的翻译^[51]。

在翻译过程中起调控作用的 lncRNA 叫做翻译调控 lncRNA (translational regulatory lncRNA, treRNA), 它们最初是通过生物信息学的方式被发现的^[52]。在淋巴转移的乳腺癌临床样本中, treRNA 高表达促进肿瘤细胞的转移和侵袭^[53]。上皮细胞-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是恶性肿瘤转移的标志之一, 而上皮细胞钙调蛋白 (如 E-cadherin) 低表达可诱导上皮细胞-间充质转化的发生。虽然在恶性肿瘤细胞中, 钙调蛋白的 mRNA 水平并未发生改变, 但是蛋白的表达量却明显低于正常细胞, 原因是翻译调控的 lncRNA 影响了钙调蛋白的翻译^[53]。lincRNA-p21 是通过 RNA-RNA 之间的碱基互补配对来影响 mRNA 的翻译, 这与翻译调控的 lncRNA 的作用机理完全不同: 由 RNA 结合蛋白 (如 hnRNP K、FXR1、FXR2)、PUF60 和 SF3B3 共同组成的核糖核蛋白复合物 (ribonucleoprotein complex), 与翻译调控的 lncRNA 一起共同作用在钙调蛋白的 mRNA 的 3'UTR 区, 使得原本 mRNA 上结合的高密度多聚核糖体 (HMW polysomes) 变为了低密度的多聚核糖体 (LMW polysomes), 进而减缓了钙调蛋白翻译的进程, 促进相邻基因的表达^[52, 53]。

1.4 其他

有些 lncRNA 的调控作用不止一种, 比如 Xist 不仅仅参与调控 X 染色体失活, 近年的研究发现它

还可以与 microRNA 相互结合, 影响肿瘤的形成^[54-55]。再如前面提到的基因间 lncRNA lincRNA-p21, 它除了影响 mRNA 的翻译外, 还可以与核内不均一蛋白 K 相互结合, 顺式调控 p21 蛋白的表达, 影响细胞的周期变化^[56]。一些由基因座反义链转录而来的 lncRNA 除了对其正义链具有转录调控外, 自身在其他方面也有功能。肿瘤抑制因子 DIRAS3 与乳腺癌和卵巢癌的发生发展相关^[57-59], 其基因座上转录出来的反义 RNA, 即 lncRNA GNG12-AS1 分别在转录水平和转录后水平与肿瘤的转移和侵袭密切相关。转录水平上, 敲低 lncRNA GNG12-AS1 的第一个外显子, 其转录水平会降低, 使得 DIRAS3 表达量上升, 进而调控细胞周期, 抑制肿瘤的发生; 转录后水平上, 若敲低 lncRNA GNG12-AS1 的第七个外显子, 则不影响该 RNA 的转录, 也不会影响 DIRAS3 的表达, 但此时 lncRNA GNG12-AS1 的量会减少, 上皮细胞-间充质转化有所提升, 同时细胞会发生转移和侵袭^[60]。

2 lncRNA与肿瘤的发生发展

肿瘤细胞生长周期快, 失去接触抑制, 具有无限增殖的能力, 也不会像正常细胞那样出现凋亡, 甚至具有迁移性, 可以转移至其他组织。导致肿瘤细胞出现这些表征的原因是细胞内的调控网络出现紊乱或是细胞间的通讯形成肿瘤适宜的微环境。那 lncRNA 对细胞调控的作用怎样影响肿瘤的发生发展呢, 下面将举一些例子一一说明。

2.1 lncRNA与肿瘤细胞的生长

肿瘤细胞自身可以分泌一些生长因子促其生长。在 T 细胞淋巴瘤急性白血病 (T cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL) 中, 蛋白 Notch1 激活 lncRNA LUNAR1 的转录, 且两者相互结合共同提高胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 的表达并增强其信号通路, 促进肿瘤细胞的生长^[61]。

人染色体 8q24 区存在一个缺乏转录活性的碱基区, 在很多恶性肿瘤细胞中, 该区 DNA 拷贝数异常扩增, 伴随着此区的原癌基因 MYC 急速扩增, 但是, 现在有证据表明, lncRNA 参与由 MYC 致癌的过程。在人类的 Burkitt's 淋巴瘤中, 位于该染色体区域的 PVT1 基因出现多样异位, PVT1 基因的产物是一条 lncRNA PVT1, 该基因与小鼠的转录物同源。在 MYC 肿瘤生成的小鼠模型中, 仅有 MYC 基因的扩增, 并不足以促使肿瘤的生成, 包括 MYC

和 PVT1 在内的多个基因同时扩增才能致使肿瘤的发生^[62]。前列腺组织特异表达的 lncRNA PCGEM1 同样位于染色体的 8q24 区域中, 该 RNA 可以与 Myc 蛋白结合, 增强 Myc 对下游基因的转录, 促进前列腺癌细胞的增殖^[63]。一些受 Myc 转录调控的 lncRNA, 也可以引起细胞周期的变化^[64-65]。

2.2 lncRNA与肿瘤细胞的凋亡

肿瘤的发生发展不仅是因为细胞增殖过快, 而且还与细胞死亡率下降有关。在恶性肿瘤细胞中, 细胞群的凋亡现象受到抑制, 从而保证肿瘤细胞的高速生长。说到细胞凋亡, 就不得不提 P53 蛋白, 作为肿瘤抑制因子, P53 蛋白对细胞起着监护作用, 一旦细胞受到损伤, P53 蛋白或者对 DNA 进行修复改变细胞周期变化, 或者引发细胞凋亡。早前就有证据表明, P53 蛋白可与多种 RNA 结合^[66]; 如今已证实许多与 P53 结合的 lncRNA, 可通过 P53 途径调控细胞凋亡^[47,67]。如 lncRNA PANDA 由 DNA 损伤诱导产生, 受到 P53 调控可与转录因子 NF-YA 结合, 使之不能再促进促凋亡因子的表达, 从而抑制细胞凋亡^[68]。

在缺乏营养等环境压力下, 肿瘤细胞与正常细胞相比, 具有生长优势^[18]。当环境中营养不足或是生长因子减少时, 会诱导 lncRNA Gas5 (growth arrest specific 5) 的生成, Gas5 与糖皮质激素应答元件竞争性结合糖皮质激素受体, 从而抑制细胞凋亡^[69-70]。在乳腺癌组织中, Gas5 的表达量低于癌旁组织, 因此, 抑制乳腺癌细胞中 Gas5 的表达量可以提高乳腺癌细胞在贫瘠环境中的存活率, 暗示了增加 Gas5 的表达量可以用于治疗乳腺癌^[71]。

2.3 lncRNA与肿瘤细胞的迁移

前面讲到 MALAT1 具有调节可变剪切的功能, 在转录后水平调控基因表达。有证据显示, 在肿瘤细胞中, MALAT1 正是通过可变剪切的方式影响细胞分化和成瘤信号通路的基因, 敲低 MALAT1 导致肿瘤细胞的黏附性增强, 迁移性减弱^[72]。

很多与肿瘤相关的 lncRNA 都可以调控肿瘤细胞的侵袭和转移^[9,25,54,73]。绝大多数由肿瘤引起的死亡与转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 诱导 EMT 引起肿瘤细胞的迁移相关。在肝癌细胞中, TGF- β 会激活 lncRNA ATB 的表达, 促进细胞进行 EMT 转化, 获得侵袭能力并进行转移^[74]。在乳腺癌细胞中, 由趋化因子诱导产生的 lncRNA BCAR4 可以与转录因子 SNIP1 和 PNUTS 结合来回应 CCL21 的应答, 激活细胞内非典型

GLI2 信号途径, 促进肿瘤细胞的迁移^[75]。

2.4 其他

前面谈到 P53 蛋白可以与多种 lncRNA 相互作用, 并调控细胞的命运。同样, P53 蛋白可以被 lncRNA 调控, 如当细胞 DNA 受损时, 会诱导 lncRNA DINO 的生成, DINO 可以直接与 P53 蛋白结合并促进 P53 下游靶基因的转录, 决定细胞命运, 若细胞中缺少 DINO, P53 蛋白会变得很不稳定^[76]。

2016 年, 又发现了 lncRNA 的一个新功能——维持染色体的数量。大多数癌细胞都有染色体数目不稳定的特征, 由 *NORAD* 基因转录而来的 lncRNA *NORAD* 可帮助细胞维持染色体的正常数量。lncRNA *NORAD* 可通过蛋白 PUMILIO 在细胞分裂间期控制染色体的分离, 从而维持染色体数目的稳定^[77]。

3 总结

lncRNA 除了线性结构外, 也有环状的 (circular RNAs, circRNAs), 也许是受到结构的影响, circRNAs 比线性的 lncRNA 半衰期长, 更稳定, 它们也有组织特异性, 在特定的时期特异表达, 影响生长发育过程, 也会引起肿瘤等疾病^[78-81]。

正是由于 lncRNA 的表达具有组织特异性, 并且对肿瘤的发生发展有重要的影响, 因此, 一些具有表达特性的 lncRNA 可作为临床诊断的标志物和治疗靶点, 如 lncHIFCAR 在口腔癌患者的肿瘤细胞中高表达, 可作为临床上该疾病的检测标志物和治疗靶点^[9]; lncRNA LIPCAR 在发生左心室重塑的患者中特异性表达, 因而可作为心脏重塑的分子检测标志物^[81]; 在胃癌患者中, lncRNA AA174084 处于下调状态, 因而可成为胃癌早期诊断的标志物^[82]; 在结直肠癌患者体内, 若 lncRNA CCAT1 和 CCAT2 高表达, 则意味着该疾病生存率低和复发率高, 所以也可作为临床检测标记物^[83]。2017 年, Nabet 等^[84] 研究还发现, 在外泌体中也存在 lncRNA, 在正常细胞中, 这些外泌体 lncRNA 可与 RNA 结合蛋白相互结合, 使其自身作用被中和掉, 而在肿瘤细胞中, 外泌体 lncRNA 表达量升高, 促进肿瘤的发生。

4 展望

如果将 DNA 比喻成生物体的蓝图, 蛋白质是最终的表现形式, 那么 RNA 就是完成这幅巨作的执行者。在基因的表达过程中, RNA 几乎参与全部的环节, 其中非编码 RNA 更是掌控着细胞的命

运。即使是肿瘤的发生发展, lncRNA 也与之有着千丝万缕的联系, 但是, 对很多肿瘤来说, 尽管可以通过高通量测序找到一些 lncRNA 的特异性高表达或是低表达, 甚至不表达, 但对其分子机理还了解的不够透彻, 因而想在临床诊断和治疗中运用还需要做进一步的研究。总体说来, 虽然 lncRNA 的数量庞大, 但是对其机理研究清楚的不多, 还有一些 lncRNA 其功能不止一种, 所以, lncRNA 的领域中还有很大的空白尚待了解。

[参 考 文 献]

- [1] International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*, 2004, 431: 931-45
- [2] Ulitsky I, Shkumatava A, Jan CH, et al. Conserved function of lincRNAs in vertebrate embryonic development despite rapid sequence evolution. *Cell*, 2011, 147: 1537-50
- [3] Chodroff RA, Goodstadt L, Sirey TM, et al. Long noncoding RNA genes: conservation of sequence and brain expression among diverse amniotes. *Genome Biol*, 2010, 11: R72
- [4] Zhu M, Liu J, Xiao J, et al. Lnc-mg is a long non-coding RNA that promotes myogenesis. *Nat Commun*, 2017, 8: 14718
- [5] Xia M, Liu J, Liu S, et al. Ash1l and lnc-Smad3 coordinate *Smad3* locus accessibility to modulate iTreg polarization and T cell autoimmunity. *Nat Commun*, 2017, 8: 15818
- [6] Chu HP, Cifuentes-Rojas C, Kesner B, et al. TERRA RNA antagonizes ATRX and protects telomeres. *Cell*, 2017, 170: 86-101.e16
- [7] Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor. *J Mol Endocrinol*, 2012, 48: R45-53
- [8] Rigoutsos I, Lee SK, Nam SY, et al. N-BLR, a primate-specific non-coding transcript leads to colorectal cancer invasion and migration. *Genome Biol*, 2017, 18: 98
- [9] Shih JW, Chiang WF, Wu AT, et al. Long noncoding RNA lncHIFCAR/MIR31HG is a HIF-1 α co-activator driving oral cancer progression. *Nat Commun*, 2017, 8: 15874
- [10] Yao J, Zhou B, Zhang J, et al. A new tumor suppressor lncRNA ADAMTS9-AS2 is regulated by DNMT1 and inhibits migration of glioma cells. *Tumour Biol*, 2014, 35: 7935-44
- [11] Yang F, Zhang L, Huo XS, et al. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans. *Hepatology*, 2011, 54: 1679-89
- [12] Seiler J, Breinig M, Caudron-Herger M, et al. The lncRNA VELUCT strongly regulates viability of lung cancer cells despite its extremely low abundance. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 5458-69
- [13] Amort M, Nachbauer B, Tuzlak S, et al. Expression of the vault RNA protects cells from undergoing apoptosis. *Nat*

- Commun, 2015, 6: 7030
- [14] Peart N, Sataluri A, Baillat D, et al. Non-mRNA 3' end formation: how the other half lives. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2013, 4: 491-506
- [15] Peterlin BM, Brogie JE, Price DH. 7SK snRNA: a non-coding RNA that plays a major role in regulating eukaryotic transcription. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2012, 3: 92-103
- [16] Shumyatsky G, Tillib S, Kramerov D. B2 RNA and 7SK RNA, RNA polymerase III transcripts, have a cap-like structure at their 5' end. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 6347-51
- [17] Gupta S, Busch RK, Singh R, et al. Characterization of U6 small nuclear RNA cap-specific antibodies. Identification of γ -monomethyl-GTP cap structure in 7SK and several other human small RNAs. *J Biol Chem*, 1990, 265: 19137-42
- [18] Schmitt AM, Chang HY. Long noncoding RNAs in cancer pathways. *Cancer Cell*, 2016, 29: 452-63
- [19] Fujimoto A, Furuta M, Totoki Y, et al. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer. *Nat Genet*, 2016, 48: 500-9
- [20] Cajigas I, Leib DE, Cochrane J, et al. Evf2 lncRNA/BRG1/DLX1 interactions reveal RNA-dependent inhibition of chromatin remodeling. *Development*, 2015, 142: 2641-52
- [21] Atianand MK, Hu W, Satpathy AT, et al. A Long noncoding RNA lincRNA-EPS acts as a transcriptional brake to restrain inflammation. *Cell*, 2016, 165: 1672-85
- [22] Prensner JR, Iyer MK, Sahu A, et al. The long noncoding RNA SchLAP1 promotes aggressive prostate cancer and antagonizes the SWI/SNF complex. *Nat Genet*, 2013, 45: 1392-8
- [23] Wan L, Sun M, Liu GJ, et al. Long noncoding RNA PVT1 promotes non-small cell lung cancer cell proliferation through epigenetically regulating LATS2 expression. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15: 1082-94
- [24] Zhao J, Sun BK, Erwin JA, et al. Polycomb proteins targeted by a short repeat RNA to the mouse X chromosome. *Science*, 2008, 322: 750-6
- [25] Huarte M. The emerging role of lncRNAs in cancer. *Nat Med*, 2015, 21: 1253-61
- [26] Yap KL, Li S, Munoz-Cabello AM, et al. Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol Cell*, 2010, 38: 662-74
- [27] Pasmant E, Laurendeau I, Heron D, et al. Characterization of a germ-line deletion, including the entire INK4/ARF locus, in a melanoma-neural system tumor family: identification of ANRIL, an antisense noncoding RNA whose expression coclusters with ARF. *Cancer Res*, 2007, 67: 3963-9
- [28] Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell*, 2007, 129: 1311-23
- [29] Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature*, 2010, 464: 1071-6
- [30] Bernardes de Jesus B, Blasco MA. Telomerase at the intersection of cancer and aging. *Trends Genet*, 2013, 29: 513-20
- [31] Azzalin CM, Lingner J. Telomere functions grounding on TERRA firma. *Trends Cell Biol*, 2015, 25: 29-36
- [32] Song X, Sun Y, Garen A. Roles of PSF protein and VL30 RNA in reversible gene regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 12189-93
- [33] Patton JG, Porro E, Galceran J, et al. Cloning and characterization of PSF, a novel pre-mRNA splicing factor. *Genes Dev*, 1993, 7: 393-406
- [34] Song X, Sui A, Garen A. Binding of mouse VL30 retrotransposon RNA to PSF protein induces genes repressed by PSF: effects on steroidogenesis and oncogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 621-6
- [35] Keith B, Simon MC. Hypoxia-inducible factors, stem cells, and cancer. *Cell*, 2007, 129: 465-72
- [36] Semenza GL. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology. *Annu Rev Pathol*, 2014, 9: 47-71
- [37] Pan Q, Shai O, Lee LJ, et al. Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing. *Nat Genet*, 2008, 40: 1413-5
- [38] Wang ET, Sandberg R, Luo S, et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes. *Nature*, 2008, 456: 470-6
- [39] Blencowe BJ. Alternative splicing: new insights from global analyses. *Cell*, 2006, 126: 37-4
- [40] Long JC, Caceres JF. The SR protein family of splicing factors: master regulators of gene expression. *Biochem J*, 2009, 417: 15-27
- [41] Stamm S. Regulation of alternative splicing by reversible protein phosphorylation. *J Biol Chem*, 2008, 283: 1223-7
- [42] Tripathi V, Ellis JD, Shen Z, et al. The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol Cell*, 2010, 39: 925-38
- [43] Liu X, Li D, Zhang W, et al. Long non-coding RNA gadd7 interacts with TDP-43 and regulates Cdk6 mRNA decay. *EMBO J*, 2012, 31: 4415-27
- [44] Shi X, Sun M, Wu Y, et al. Post-transcriptional regulation of long noncoding RNAs in cancer. *Tumour Biol*, 2015, 36: 503-13
- [45] Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, et al. A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. *Cell*, 2011, 147: 358-69
- [46] Poliseno L, Salmena L, Zhang J, et al. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*, 2010, 465: 1033-8
- [47] Huarte M, Guttman M, Feldser D, et al. A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell*, 2010, 142: 409-19
- [48] Denkert C, Koch I, von Keyserlingk N, et al. Expression of the ELAV-like protein HuR in human colon cancer: association with tumor stage and cyclooxygenase-2. *Mod*

- Pathol, 2006, 19: 1261-9
- [49] Mrena J, Wiksten JP, Kokkola A, et al. Prognostic significance of cyclin A in gastric cancer. *Int J Cancer*, 2006, 119: 1897-901
- [50] Saunus JM, French JD, Edwards SL, et al. Posttranscriptional regulation of the breast cancer susceptibility gene BRCA1 by the RNA binding protein HuR. *Cancer Res*, 2008, 68: 9469-78
- [51] Yoon JH, Abdelmohsen K, Srikantan S, et al. LincRNA-p21 suppresses target mRNA translation. *Mol Cell*, 2012, 47: 648-55
- [52] Orom UA, Derrien T, Berlinger M, et al. Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell*, 2010, 143: 46-58
- [53] Gumireddy K, Li A, Yan J, et al. Identification of a long non-coding RNA-associated RNP complex regulating metastasis at the translational step. *EMBO J*, 2013, 32: 2672-84
- [54] Yu H, Xue Y, Wang P, et al. Knockdown of long non-coding RNA XIST increases blood-tumor barrier permeability and inhibits glioma angiogenesis by targeting miR-137. *Oncogenesis*, 2017, 6: e303
- [55] Zhuang LK, Yang YT, Ma X, et al. MicroRNA-92b promotes hepatocellular carcinoma progression by targeting Smad7 and is mediated by long non-coding RNA XIST. *Cell Death Dis*, 2016, 7: e220
- [56] Dimitrova N, Zamudio JR, Jong RM, et al. LincRNA-p21 activates p21 in cis to promote Polycomb target gene expression and to enforce the G₁/S checkpoint. *Mol Cell*, 2014, 54: 777-90
- [57] Yu Y, Xu F, Peng H, et al. *NOEY2* (ARHI), an imprinted putative tumor suppressor gene in ovarian and breast carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 214-9
- [58] Wang L, Hoque A, Luo RZ, et al. Loss of the expression of the tumor suppressor gene *ARHI* is associated with progression of breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2003, 9: 3660-6
- [59] Dalai I, Missiaglia E, Barbi S, et al. Low expression of *ARHI* is associated with shorter progression-free survival in pancreatic endocrine tumors. *Neoplasia*, 2007, 9: 181-3
- [60] Stojic L, Niemczyk M, Orjalo A, et al. Transcriptional silencing of long noncoding RNA *GNG12-ASI* uncouples its transcriptional and product-related functions. *Nat Commun*, 2016, 7: 10406
- [61] Trimarchi T, Bilal E, Ntziachristos P, et al. Genome-wide mapping and characterization of Notch-regulated long noncoding RNAs in acute leukemia. *Cell*, 2014, 158: 593-606
- [62] Tseng YY, Moriarity BS, Gong W, et al. *PVT1* dependence in cancer with MYC copy-number increase. *Nature*, 2014, 512: 82-6
- [63] Hung CL, Wang LY, Yu YL, et al. A long noncoding RNA connects c-Myc to tumor metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 18697-702
- [64] Zheng GX, Do BT, Webster DE, et al. Dicer-microRNA-Myc circuit promotes transcription of hundreds of long noncoding RNAs. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21: 585-90
- [65] Kim T, Cui R, Jeon YJ, et al. MYC-repressed long non-coding RNAs antagonize MYC-induced cell proliferation and cell cycle progression. *Oncotarget*, 2015, 6: 18780-9
- [66] Yoshida Y, Izumi H, Torigoe T, et al. Binding of RNA to p53 regulates its oligomerization and DNA-binding activity. *Oncogene*, 2004, 23: 4371-9
- [67] Li M, Gou H, Tripathi BK, et al. An *Apela* RNA-containing negative feedback loop regulates p53-mediated apoptosis in embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2015, 16: 669-83
- [68] Hung T, Wang Y, Lin MF, et al. Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters. *Nat Genet*, 2011, 43: 621-9
- [69] Kino T, Hurt DE, Ichijo T, et al. Noncoding RNA gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor. *Sci Signal*, 2010, 3: ra8
- [70] Hudson WH, Pickard MR, de Vera IM, et al. Conserved sequence-specific lincRNA-steroid receptor interactions drive transcriptional repression and direct cell fate. *Nat Commun*, 2014, 5: 5395
- [71] Mourtada-Maarabouni M, Pickard MR, Hedge VL, et al. GAS5, a non-protein-coding RNA, controls apoptosis and is downregulated in breast cancer. *Oncogene*, 2009, 28: 195-208
- [72] Arun G, Diermeier S, Akerman M, et al. Differentiation of mammary tumors and reduction in metastasis upon Malat1 lincRNA loss. *Genes Dev*, 2016, 30: 34-51
- [73] Prensner JR, Zhao S, Erho N, et al. RNA biomarkers associated with metastatic progression in prostate cancer: a multi-institutional high-throughput analysis of *SChLAPI*. *Lancet Oncol*, 2014, 15: 1469-80
- [74] Yuan JH, Yang F, Wang F, et al. A long noncoding RNA activated by TGF- β promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*, 2014, 25: 666-81
- [75] Xing Z, Lin A, Li C, et al. lncRNA directs cooperative epigenetic regulation downstream of chemokine signals. *Cell*, 2014, 159: 1110-25
- [76] Schmitt AM, Garcia JT, Hung T, et al. An inducible long noncoding RNA amplifies DNA damage signaling. *Nat Genet*, 2016, 48: 1370-6
- [77] Tichon A, Gil N, Lubelsky Y, et al. A conserved abundant cytoplasmic long noncoding RNA modulates repression by Pumilio proteins in human cells. *Nat Commun*, 2016, 7: 12209
- [78] Piwecka M, Glažar P, Hernandez-Miranda LR, et al. Loss of a mammalian circular RNA locus causes miRNA deregulation and affects brain function. *Science*, 2017, 357: eaam8526
- [79] Lukiw WJ. Circular RNA (circRNA) in Alzheimer's disease (AD). *Front Genet* 2013, 4: 307
- [80] Hansen TB, Kjems J, Damgaard CK. Circular RNA and miR-7 in cancer. *Cancer Res*, 2013, 73: 5609-12
- [81] Kumarswamy R, Bauters C, Volkman I, et al. Circulating long noncoding RNA, LIPCAR, predicts survival in patients with heart failure. *Circ Res*, 2014, 114: 1569-75
- [82] Shao Y, Ye M, Jiang X, et al. Gastric juice long noncoding

- RNA used as a tumor marker for screening gastric cancer. *Cancer*, 2014, 120: 3320-8
- [83] Ozawa T, Matsuyama T, Toiyama Y, et al. CCAT1 and CCAT2 long noncoding RNAs, located within the 8q.24.21 'gene desert', serve as important prognostic biomarkers in colorectal cancer. *Ann Oncol*, 2017, 28: 1882-8
- [84] Nabet BY, Qiu Y, Shabason JE, et al. Exosome RNA unshielding couples stromal activation to pattern recognition receptor signaling in cancer. *Cell*, 2017, 170: 352-66.e13