

本文引用: 高丽云, 吴卫东. 长链非编码 RNA 的作用机制与肿瘤的关系 [J]. 新乡医学院学报, 2014, 31(2): 150-153.

【综述】

长链非编码 RNA 的作用机制与肿瘤的关系

高丽云, 吴卫东

(新乡医学院公共卫生学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 长片段非编码 RNA (lncRNA) 是一类长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA 分子, 具有调控基因表达作用的非编码 RNA。lncRNA 广泛参与机体的生理、病理过程, 在肿瘤的发生、发展中起重要作用, 本文在介绍 lncRNA 的基础上, 综合分析 lncRNA 对基因表达调控作用的机制及其与肿瘤的关系。

关键词: 长链非编码 RNA; 基因的表达调控; 肿瘤

中图分类号: R730.231 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2014)02-0150-04

通过对人类基因组测序发现, 约 98% 的 RNA 不能翻译为蛋白质, 此类 RNA 能从基因组上转录而来, 但是不编码蛋白质的 RNA, 并在 RNA 水平上行使其生物学功能, 通称非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA)。ncRNA 中有一类长度超过 200 个核苷酸的 RNA 称为长片段 ncRNA (long non-coding RNA, lncRNA), 其占总 RNA 的比例可达 4% ~ 9%, 占 ncRNA 的 80%, 多由 RNA 聚合酶 II 转录^[1]。近年研究证明, 这类基因组在许多生物学过程中发挥重要功能, 越来越受到人们的重视。

1 lncRNA 的一般特性

lncRNA 是一类转录物长度大于 200 个核苷酸的 RNA 分子, 位于细胞核内或细胞质中, 不编码蛋白质, 以 RNA 形式通过表观遗传调控、转录调控以及转录后调控等形式调控基因的表达^[2]。有些 lncRNA 像 mRNA 一样具有 5' 帽和 3' 多聚腺苷酸尾, 通过剪切才能成为成熟的 lncRNA, 并能在真核细胞基因组中普遍表达^[3]。已证明许多 lncRNA 在一级结构水平上具有低保守性, 但其二级结构具有保守性, 同时 lncRNA 可以折叠形成许多有功能的二级结构^[4]。有些 lncRNA 在不同的物种中相当保守, 而另一些非保守的 lncRNA 的功能具有种系特异性^[5]。

2 lncRNA 对基因的表达调控

2.1 lncRNA 的表观遗传水平调控 表观遗传指在基因组 DNA 序列不发生改变的情况下, 基因表达发生可遗传改变, 这些改变包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、基因组印迹、随机染色体失活及 ncRNA 的

调节作用等。lncRNA 调控表观遗传的机制有基因组印迹、剂量补偿效应、染色质修饰等。

2.1.1 lncRNA 调控基因组印迹 基因组印迹是在配子或合子发生期间, 来自亲本的等位基因产生专一性的加工修饰, 导致后代体细胞中 2 个亲本来源的等位基因有不同的表达活性的现象。其基因组印迹表现为 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化和甲基化等。印迹基因通常以基因簇形式存在, 形成印迹控制区 (imprinted control region, ICR), 1 个印迹区内至少存在 1 个非编码 RNA 基因, 其中 lncRNA 基因出现频率高^[6], 这提示 lncRNA 可能参与调控印记基因表达^[7]。

目前对这一领域的研究基本上是针对 2 个基因印记区 17 号染色体近端的胰岛素样生长因子 2 (insulin-like growth factor 2, IGF2) 受体 IGF2 区和 7 号染色体远端的 Kcnq1 基因的 Kcnq1 区, lncRNA 在这些印记位点发挥重要作用^[8]。印迹区 lncRNA H19 与 IGF2 反义, 是 miRNA-675 前体, 呈母源表达^[9]。胚胎组织中 H19 转录水平表达高, 出生后下调^[10]。在结肠癌中, H19 转录基因座因印迹丢失而上调, 导致在结直肠癌中 miRNA-675 上调, 由于 miRNA-675 下调肿瘤抑制子 RB1 的表达, 提示 H19 有促癌作用^[11]。然而在缺乏 H19 的小鼠畸胎瘤模型中发现了胚胎生长快速的现象, 又提示 H19 有抑癌作用^[12]。由此推断 H19 存在双向调节调控印记基因功能。

2.1.2 lncRNA 调控剂量补偿效应 剂量补偿效应是具有 X、Y 性别决定机制的生物体内, 调控性连锁基因在 2 种性别里以相对相等的剂量进行有效表达的遗传学机制。X 染色体失活发生在胚胎发育早期, 该过程由 X 染色体上失活中心 (X-inactivation center, Xic) 控制, Xic 缺失将中止 X 染色体失活。lncRNA 调控剂量补偿效应的一个机制: lncRNA 基

DOI: 10.7683/xyxyxb.2014.02.022

收稿日期: 2013-09-09

作者简介: 高丽云 (1977-), 女, 湖北浠水人, 讲师, 博士, 主要从事环境分子研究。

因 Xist 定位于 Xic,它能招募并结合染色质重构复合体(polycomb repressive complex 2,PRC2)介导基因沉默。Xist 由拟失活的 X 染色体转录,随之附着于该条 X 染色体,招募 DNA 甲基化酶和组蛋白去乙酰化酶,通过染色体修饰,使之固缩为异染色质,导致基因沉默^[13]。

2.1.3 lncRNA 调控染色质修饰 在人类 3 300 种基因间 lncRNA 中,约 20% 可与染色质修饰复合物结合,通过与各种染色质修饰酶的相互作用,对染色质进行化学修饰,改变其构象,激活或抑制相关基因的表达^[14],实现调控染色质重构影响基因表达和参与体内多种生命活动过程及肿瘤等疾病的发生^[15]。lncRNA 通过 2 个机制进行染色质修饰:(1)其通过招募形成染色质修饰复合物而沉默邻近基因转录;(2)lncRNA 通过招募形成染色质修饰复合物而远程调控沉默基因转录,例如 HOTAIR 的 5'端可招募结合多梳蛋白抑制复合物 2(polycomb repressive complex 2,PRC2),借助 PRC2 上 3 个 H3K27 甲基化酶 EZH2、SUZ12、EED^[16],使另一基因座 HOXD 上长约 40 kb 的序列转录沉默^[11]。

2.2 lncRNA 转录水平的调控

2.2.1 lncRNA 的转录能够干扰临近基因的表达

lncRNA 自身转录时可干扰邻近基因的表达。如: Dlx 在神经系统的发生发展过程中发挥关键作用,被 2 个位于 Dlx-5/6 区的极端保守的增强子调控,其中 1 个增强子区被转录为长 3.8 knt 的 lncRNA Evf-2,lncRNA Evf-2 募集转录因子 Dlx-2 到增强子,激活邻近蛋白编码基因的表达^[17]。

2.2.2 lncRNA 与转录因子相互作用调控基因转录

2.2.2.1 lncRNA 作为转录因子的共激活因子调控基因转录 lncRNA Evf-2 除了募集转录因子 Dlx-2 到增强子,激活邻近蛋白编码基因的表达外^[17],lncRNA Evf-2 还与 Dlx-2 结合成稳定的复合物,通过活化 Dlx-2,招募转录因子 CpG 甲基结合蛋白 2 至 Dlx-5/6 调节位点,增强 Dlx-5/6 基因的转录,调控 γ -氨基丁酸神经元的发育及大脑兴奋性神经网络,lncRNA Evf-2 转录异常可导致癫痫及神经系统退行性疾病(如 Huntington 病)等^[18]。

2.2.2.2 lncRNA 可募集转录调控因子至靶基因启动子,调控靶基因转录 外界刺激等 DNA 损伤信号可诱导一种单链低拷贝 lncRNA,它能募集 RNA 结合脂肪肉瘤转运蛋白(translesion synthesis,TLS)到细胞周期素 D1(cyclin D1,CCND1)启动子区,因 TLS 构象发生改变而被激活,TLS 抑制环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate,cAMP)的应答元件结合蛋白(cAMP response element binding protein,CREB)结合蛋白及组蛋白乙酰转移酶 P300 活性,

从而阻遏 CCND1 的表达^[19]。

2.2.2.3 lncRNA 可促进转录因子寡聚并组成复合物,以增强靶基因的转录 当细胞受到外界热刺激或发生其他应激反应时,长非编码 RNA 热休克 RNA-1(heat-shock RNA-1,HSR1)可促进热休克转录因子 1(HSF1)三聚体化。HSR1 与真核细胞翻译延伸因子 1A(recombinant human heat shock transcription factor-1, μ EF1A)及 HSF1 组成复合物,诱导热休克蛋白基因的表达,发挥细胞保护作用^[20]。

2.2.2.4 lncRNA 通过改变转录因子的亚细胞定位调控基因转录 活化 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T cells,NFAT)即转录因子 NFAT(活化 T 细胞的核因子),在钙依赖信号作用下,从细胞质转入细胞核在核内 NFAT 激活靶基因启动转录^[21]。NFAT 发生核转运的一个关键调节子是长为 0.8 ~ 3.7 kb 的非编码 RNA NRON(即 NFAT 的非编码抑制子)^[22]。

2.2.3 lncRNA 与 DNA 通过碱基互补形成三螺旋复合物,影响靶基因转录 在真核细胞中普遍存在着由 lncRNA 与 DNA 通过碱基互补形成稳定的三螺旋复合物,调控着靶基因的表达。如在人类蛋白编码基因上游区域二氢叶酸还原酶基因(dihydrofolate reductase,DHFR)位点转录的 lncRNA,与启动子形成 RNA-DNA 的三螺旋结构,即 DNA-RNA 三联复合物的形成占据了转录因子(general transcription factor IIB,TFIIB)的位置,使得 TFIIB 无法与人二氢叶酸还原酶 DHFR 基因的启动子相结合,从而导致转录无法启动^[23]。

2.2.4 lncRNA 与 RNA 聚合酶 II(RNA P II)相互作用调控基因转录 lncRNA 与 RNA P II 相互作用可调控基因转录。如人类 Alu 基因均具有抑制性结构域,在遇到热刺激等外界胁迫时,Alu 可直接与 RNA P 结合,能够和 RNA P II 结合,抑制前转录活性复合物的形成,阻止转录的起始,并迅速改变基因表达模式^[24]。也有些 lncRNA 与 RNA P II 结合,抑制其他 mRNA 的转录。

2.2.5 lncRNA 作为内源性竞争性 RNA 控制基因的转录 研究发现,一种肌肉特异性 lncRNA 肌分化基因间非编码长链 RNA1(linc-MD1)作为内源性竞争性 RNA,控制着肌母细胞分化。miR-135 和 miR-133 可阻断肌母细胞相关基因的转录,而 linc-MD1 可竞争性结合 miR-135 和 miR-133,促进肌母细胞相关基因的转录,通过上调或下调 linc-MD1 的表达调控肌母细胞的分化^[25]。

2.3 lncRNA 转录后水平的调控

2.3.1 lncRNA 可被剪切成非编码小 RNA 发挥调控作用 成熟 lncRNA 经 Dicer 酶或 Drosha 酶剪切

加工而成非编码小RNA如miRNA和piRNA等,发挥它们各自的功能^[26]。此外,假基因转录生成的反义lncRNA及天然反义链转录物可杂交相应的mRNA,形成双链RNA,在Dicer酶作用下产生内源性siRNA,促进特定mRNA降解^[27]。

2.3.2 lncRNA可增加mRNA稳定性,发挥调控作用 有些lncRNA通过碱基配对与互补mRNA形成双链RNA,阻止mRNA被其他非编码小RNA降解,增加了其稳定性,发挥调控作用^[28]。分泌酶1基因的反义转录物BACE1-AS(BACE1-antisense)与BACE1 mRNA存在互补配对重叠区,增加了BACE1 mRNA的稳定性。阿尔茨海默病患者的BACE1-AS表达增加,使BACE1 mRNA的稳定性增加,大脑中BACE1蛋白水平随之升高,导致有毒性的淀粉样肽不断积累,使患者病情进行性加重^[3]。

2.3.3 lncRNA调控mRNA前体的可变剪接 lncRNA MALAT-1可通过调节丝氨酸/精氨酸剪接因子的磷酸化,使mRNA前体发生不同形式的选择性剪接,进而影响相应基因的表达及功能。MALAT-1可影响多种与RNA转录后加工有关分子的可变剪接活性。在ASO254转染宫颈癌HeLa细胞中抑制MALAT-1表达下调,MALAT-1的表达下调导致了216种基因剪接形式发生改变^[29];在人脐静脉内皮细胞中重复上述实验,发现有668种基因表现出不同的可变剪接形式^[30]。

2.3.4 lncRNA与miRNA相互作用调节其活性 lncRNA可与miRNA相互作用,影响相关mRNA转录后翻译。研究发现,长链非编码RNA-HULC在肝细胞中高表达;当用降低肝癌细胞株中HULC的表达后,内源性miR-372表达水平与HULC的表达水平呈明显负相关;后续研究发现,HULC主要通过类似于miRNA海绵的作用,不仅降低miR-372的表达,同时抑制miR-372的功能,进而影响肝癌细胞的恶性生物学行为^[31]。

3 lncRNA与肿瘤的关系

lncRNA为肿瘤生物学领域中近年出现的一颗新明星分子,与肿瘤关系的研究还处于起步阶段,它在肿瘤中的作用模式和调控机制,以及在肿瘤发生、发展中的作用尚不十分清楚,但lncRNA与多种癌症的发生、发展密切相关,如肺癌、乳腺癌及前列腺癌等。研究发现长链非编码RNA-肺腺癌转移相关转录本(lncRNA MALAT-1)在70例发生转移患者的转移标本中均存在过表达,且其表达与病程和组织特异性密切相关^[32]。肝脏中的lncRNA H19与其下游结合区血管生成素和成纤维细胞生长因子相互作用,可改变相关基因的表达而诱发肝脏肿瘤。lnc-

RNA MALAT-1在肝癌细胞株和肝癌病例均表达上调,而且MALAT-1高表达病例肝移植后更易复发,且经多因素分析MALAT-1可作为预测肝癌复发的独立预后因子。许多lncRNAs与乳腺癌的发生相关。研究发现HOTAIR在原发性乳腺肿瘤和转移乳腺癌中表达水平很高,高出正常乳腺组织2000倍,同时也证明HOTAIR与原发性乳腺癌的转移和预后密切相关^[33]。大规模基因组研究表明BC200、XIST、MALAT-1、BC1等lncRNAs在乳腺癌与正常乳腺组织中的表达存在统计学上的差异^[34]。虽然这些lncRNAs在乳腺癌中的作用机制尚不清楚,但是可以通过其表达量来预测癌症的发生。

研究发现lncRNA PCGEM1的过表达导致了前列腺癌细胞的增殖和克隆形成,同时表明PCGEM1调控着前列腺癌的发生进程,并且是潜在的前列腺癌标志物^[35]。随着研究的深入,PCGEM1可能是未来PSA更好的一种诊断前列腺癌的潜在肿瘤标志物^[36]。

除了上述常见肿瘤外,lncRNA的研究还涉及其他一些肿瘤疾病。例如lncRNA在中枢神经系统肿瘤中,随着研究的不断进行,首先在髓母细胞瘤内可检测到H19基因表达^[37],然后在脑膜瘤中发现H19有印迹丢失现象^[38]。

4 问题与展望

lncRNA数量庞大,种类繁多,结构复杂,难以预测其功能。目前对lncRNA的研究还处于起始阶段,对其认识尚存在很多空白区域。虽然各种各样的肿瘤中均存在各种不同的lncRNAs,但目前关于lncRNA与包括肿瘤在内的疾病相关联的证据大多来自于lncRNA表达水平上的差异。目前关于lncRNA的研究面临的困难仍较多,如缺乏高质量的数据库、研究手段相对较少、绝大多数lncRNA的机制尚不明确以及组织细胞特异性较强的lncRNA不多等,这些困难给研究带来了较大障碍。

基因芯片技术、高通量lncRNA表达分析技术、生物技术的成熟和应用,以及生物信息学的蓬勃发展,在一定程度上推动了lncRNA的研究。利用分子生物学、细胞生物学、蛋白质组学及动物实验手段和技术阐明lncRNA参与肿瘤发生、发展过程中可能的调控作用,多层次更深入地研究特定lncRNA的功能和调控机制,有助于寻找肿瘤治疗的新靶点。

参考文献:

- [1] 王俊青,张彦洁,任建敏,等.长链非编码RNA生物学功能及其意义研究进展[J].生命科学,2012,24(6):543-548.
- [2] Wapinski O,Chang H Y. Long noncoding RNAs and human dis-

- ease[J]. *Trends Cell Biol* 2011 21(6):354-361.
- [3] Kapranov P, Cheng J, Dike S, et al. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription[J]. *Science* 2007 316(5830):1484-1488.
- [4] Torarinsson E, Yao Z, Wiklund E D, et al. Comparative genomics beyond sequence-based alignments: RNA structures in the encode regions[J]. *Genome Res* 2008 18(2):242-251.
- [5] Marques A C, Ponting C P. Catalogues of mammalian long noncoding RNAs: modest conservation and incompleteness[J]. *Genome Biol* 2009 10(11):R124.
- [6] Stefani G, Slack F J. Small non-coding RNAs in animal development[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008 9(3):219-230.
- [7] Umlauf D, Fraser P, Nagano T. The role of long non-coding RNAs in chromatin structure and gene regulation: variations on a theme[J]. *Biol Chem* 2008 389(4):323-331.
- [8] Kacem S, Feil R. Chromatin mechanisms in genomic imprinting[J]. *Mamm Genome* 2009 20(9/10):544-556.
- [9] Gabory A, Jammes H, Dandolo L. The h19 locus: role of an imprinted non-coding RNA in growth and development[J]. *Bioessays*, 2010 32(6):473-480.
- [10] Charalambous M, Menhenniott T R, Bennett W R, et al. An enhancer element at the igf2/h19 locus drives gene expression in both imprinted and non-imprinted tissues[J]. *Deve Biol*, 2004 211(2):488-497.
- [11] Gibb E A, Brown C J, Lam W L. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas[J]. *Mol Cancer*, 2011 10(38):116.
- [12] Leighton P A, Saam J R, Ingram R S, et al. An enhancer deletion affects both h19 and igf2 expression[J]. *Genes Dev*, 1995 9(17):2079-2089.
- [13] Collins L, Chen X S. Ancestral RNA: the RNA biology of the eukaryotic ancestor[J]. *RNA Biol* 2009 6(5):495-502.
- [14] Sanchez-Elsner T, Gou D, Kremmer E, et al. Noncoding RNAs of trithorax response elements recruit drosophila ash1 to ultrabithorax[J]. *Science* 2006 311(5764):1118-1123.
- [15] Khalil A M, Guttman M, Huarte M, et al. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009 106(28):11667-11672.
- [16] Tsai M C, Manor O, Wan Y, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes[J]. *Science* 2010 329(5992):689-693.
- [17] Feng J, Bi C, Clark B S, et al. The Evf-2 noncoding RNA is transcribed from the Dlx-5/6 ultraconserved region and functions as a Dlx-2 transcriptional coactivator[J]. *Genes Dev* 2006 20(11):1470-1484.
- [18] Johnson R. Long non-coding RNAs in huntington's disease neurodegeneration[J]. *Neurobiol Dis* 2012 46(2):245-254.
- [19] Chen L L, Carmichael G G. Decoding the function of nuclear long non-coding RNAs[J]. *Curr Opin Cell Biol* 2010 22(3):357-364.
- [20] Shamovsky I, Nudler E. Isolation and characterization of the heat shock RNA 1[J]. *Methods Mol Biol* 2009 540:265-269.
- [21] Hogan P G, Chen L, Nardone J, et al. Transcriptional regulation by calcium, calcineurin, and NFAT[J]. *Genes Dev*, 2003 17(18):2205-2232.
- [22] Willingham A T, Orth A P, Batalov S, et al. A strategy for probing the function of noncoding RNAs finds a repressor of NFAT[J]. *Science* 2005 309(5740):1570-1573.
- [23] Martianov I, Ramadass A, Serra Barros A, et al. Repression of the human dihydrofolate reductase gene by a non-coding interfering transcript[J]. *Nature* 2007 445(7128):666-670.
- [24] Mariner P D, Walters R D, Espinoza C A, et al. Human Alu RNA is a modular transacting repressor of mRNA transcription during heat shock[J]. *Mol Cell* 2008 29(4):499-509.
- [25] Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, et al. A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA[J]. *Cell* 2011 147(2):358-369.
- [26] Röther S, Meister G. Small RNAs derived from longer non-coding RNAs[J]. *Biochimie* 2011 93(11):1905-1915.
- [27] Gong C, Maquat L E. "Alu" strious long ncRNAs and their roles in shortening mRNA half-lives[J]. *Cell Cycle* 2011 10(12):1882-1883.
- [28] Guhaniyogi J, Brewer G. Regulation of mRNA stability in mammalian cells[J]. *Gene* 2001 265(1):11-23.
- [29] Bernard D, Prasanth K V, Tripathi V, et al. A long nuclear-retained non-coding RNA regulates synaptogenesis by modulating gene expression[J]. *EMBO J* 2010 29(18):3082-3093.
- [30] Tripathi V, Ellis J D, Shen Z, et al. The nuclear-retained noncoding RNA malat1 regulates alternative splicing by modulating splicing factor phosphorylation[J]. *Mol Cell* 2010 39(6):925-938.
- [31] Wang J, Liu X, Wu H, et al. Creb up-regulates long non-coding RNA h1uc expression through interaction with miR-372 in liver cancer[J]. *Nucleic Acids Res* 2010 38(16):5366-5383.
- [32] Ji P, Diederichs S, Wang W, et al. Malat-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer[J]. *Oncogene* 2003 22(39):8031-8041.
- [33] Gupta R A, Shah N, Wang K C, et al. Long non-coding RNA h19 reprograms chromatin state to promote cancer metastasis[J]. *Nature* 2010 464(7291):1071-1076.
- [34] 宋皓军, 俞秀冲, 夏天, 等. 长链非编码RNA与肿瘤的关系及其临床价值[J]. 中国细胞生物学学报, 2012 34(7):704-712.
- [35] Fu X, Ravindranath L, Tran N, et al. Regulation of apoptosis by a prostate-specific and prostate cancer-associated noncoding gene, pcgem1[J]. *DNA Cell Biol* 2006 25(3):135-141.
- [36] Ifere G O, Ananaba G A. Prostate cancer gene expression marker 1 (PCGEM1): a patented prostate-specific non-coding gene and regulator of prostate cancer progression[J]. *Recent Pat DNA Gene Seq* 2009 3(3):151-163.
- [37] Albrecht S, Waha A, Koch A, et al. Variable imprinting of H19 and IGF2 in fetal cerebellum and medulloblastoma[J]. *J Neuro-pathol Exp Neurol* 1996 55(12):1210-1216.
- [38] Müller S, Zirkel D, Westphal M, et al. Genomic imprinting of IGF2 and H19 in human meningiomas[J]. *Eur J Cancer* 2000 36(5):651-655.

(本文编辑:王燕)