

非编码长链 RNA 作为肿瘤标志物的研究进展

张庆勇,朱武飞,付 晶

(三峡大学第一临床医学院 宜昌市中心人民医院,湖北 宜昌 443003)

摘 要:非编码长链 RNA(lncRNA)是指一类长度大于 200 个核苷酸的长链 RNA 分子,lncRNA 在真核细胞基因组中被普遍转录,占基因组转录物的绝大部分,其数量巨大,种类繁多,但无蛋白质编码功能,相对于研究较多的 microRNA,lncRNA 的功能目前尚不完全清楚。近年越来越多的研究发现,lncRNA 可在多个水平调控基因的表达,在肿瘤的发生发展过程中起着重要作用,在肿瘤组织中存在一些 lncRNA 的异常表达,这些异常表达具有肿瘤特异性。lncRNA 有望作为肿瘤标志物用于肿瘤的早期诊断及预后评估。全文就近年关于 lncRNA 作为肿瘤标志物研究成果作一综述。

关键词:非编码长链 RNA;肿瘤;肿瘤标志物

中图分类号:R73 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2016)12-0984-04

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2016.12.A008

Research Progress in Long Non-coding RNA as Tumor Marker

ZHANG Qing-yong,ZHU Wu-fei,FU Jing

(First College of Clinical Medical Science,China Three Gorges University,Yichang Central People's Hospital,Yichang 443003,China)

Abstract:Long non-coding RNA (lncRNA) refers to a class of length greater than 200 nucleotides long-chain RNA molecules,lncRNA is generally transcribed in eukaryotic genomes,accounts for most of the genome transcript,with a huge variety number,but no protein-coding function,compared to microRNA,lncRNA function is not very clear. But in recent years,a growing number of studies have found,lncRNA can regulate gene expression at multiple levels,which plays an important role in the development of tumors. Recent studies have found that abnormal expression of lncRNA in the tumor tissue,which is the tumor-specific,therefore,lncRNA promising as a tumor marker for early diagnosis and prognosis of tumors. This article reviews lncRNA researches as a tumor marker in recent years.

Key words:long non-coding RNA;tumor;tumor markers

非编码 RNA(noncoding RNA,ncRNA)是指基因组转录后无蛋白质编码功能的 RNA 分子,占转录组的绝大部分。根据 ncRNA 分子的大小,可将其分为非编码长链 RNA(long noncoding RNA,lncRNA)和非编码小 RNA。非编码小 RNA 的长度为几十到几百核苷酸,lncRNA 是指一类长度大于 200 个核苷酸的长链 RNA 分子,主要位于细胞胞浆中或细胞核内,具有特定的空间二级结构、高度保守的序列元件^[1]。

因其无蛋白质编码功能,过去人们普遍认为 lncRNA 是基因转录后无意义片段而一直未被重视。直到近年越来越多研究发现 lncRNA 可在多个水平调控基因的表达,在多种疾病的发生发展中起着重要的作用,其中,lncRNA 与肿瘤的发生发展存在密切的联系^[2]。有研究发现 lncRNA 可通过多种途径调节 DNA 的甲基化、组蛋白修饰及染色质的重构,在肿瘤的发生及发展中发挥重要作用^[3,4]。有研究表明 lncRNA 差异表达于肿瘤组织中,在肿瘤组织中 lncRNA 的表达异常有望成为肿瘤早期诊断及预后评估的肿瘤

收稿日期:2015-11-05;修回日期:2016-02-05

通讯作者:付晶,E-mail:282810150@qq.com

标志物^[5]。

1 lncRNA 结构与功能

lncRNA 是在大规模测序小鼠全长 cDNA 文库时被发现,因其无蛋白质编码功能,曾被认为是基因转录后无意义片段而一直未被重视^[6]。近年人们研究发现 lncRNA 并不是所谓基因转录后无意义片段,其可以在多个水平调控基因的表达,这引起了科学界的重视。lncRNA 是一类长度大于 200 个核苷酸的长链 RNA 分子,具有高度保守的序列元件,其本身缺乏开放的阅读框,不编码蛋白质,以 RNA 的形式从多种层面调控基因的表达水平^[7]。lncRNA 具有特定的二级空间结构,可通过碱基互补配对的原则与 DNA 或 RNA 发生特异性的相互作用,形成由 lncRNA 参与的精确而复杂的基因表达调控系统^[8]。在真核细胞中,lncRNA 调控基因表达的方式多种多样,lncRNA 可在表观遗传水平、转录水平及转录后水平多个水平进行调控,其可作为转录调控因子调控基因的表达,通过调控 DNA 甲基化、组蛋白修饰或染色质重构激活或沉默基因^[9]。近年研究发现 lncRNA 与多种疾病的发生发展密切相关^[10]。其中,lncRNA 与肿瘤的发生发展存在密切的联系。研究表明 lncRNA 根据其对肿瘤发生发展所起的作用,可分为抑癌 lncRNA 和促癌 lncRNA,共同参与肿瘤细胞的增殖和分化。正常情况下,抑癌 lncRNA 和促癌 lncRNA 能够达到一种平衡状态,当机体外界因素或内部调节紊乱导致 DNA 损伤时,二者可及时通过某些途径修复损伤的 DNA,而在促癌因素的作用下,会打破这种平衡状态,使促癌 lncRNA 占主导,最终导致肿瘤形成。

2 lncRNA 组织特异性表达与检测

与微小 RNA (microRNA, miRNA) 与肿瘤关系的研究方法相类似,lncRNA 与肿瘤关系研究方法也是采用逆转录聚合酶链式反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)、Northern 印迹和 lncRNA 芯片等技术筛选在肿瘤组织中异常表达的 lncRNA。

有研究表明 lncRNA 在组织中的表达谱较广

泛,且具有较强的组织表达特异性,Inagaki 等^[11]研究发现 lncRNA 以组织特异性的方式进行表达。Timothy 等在分析小鼠组织的全长 cDNA 文库时发现,大量 lncRNA 基因呈现组织特异性的表达^[12]。Mercer 等^[13]利用原位杂交技术,在小鼠脑组织中鉴定了大量 lncRNA 的表达,这些 lncRNA 的表达水平与神经细胞类型及特定的神经解剖学位置相关,这些研究提示 lncRNA 的表达存在组织特异性。近年研究发现在肿瘤组织中存在 lncRNA 异常表达,并且存在肿瘤组织特异性,为 lncRNA 作为肿瘤标志物提供了科学依据。

3 lncRNA 作为肿瘤标志物的潜能

lncRNA 与肿瘤的发生发展有密切的关系,可通过介导转录水平的基因调控癌相关蛋白的表达^[14],从而影响肿瘤的发生发展。近年来,在肿瘤组织中陆续发现了一些异常表达的 lncRNA,涉及到人体各个系统的肿瘤,这些异常表达的 lncRNA 具有肿瘤组织特异性,且与肿瘤的早期诊断与预后相关。因此,在肿瘤细胞中表达异常的 lncRNA 有望作为肿瘤标志物用于肿瘤的早期诊断及预后评估,尤其是在某些肿瘤发生的早期,因为此时肿瘤较小,通过影像学难以发现,此时,如 lncRNA 能应用于肿瘤的早期诊断,其价值巨大。目前在肿瘤早期诊断及预后方面研究较深入的 lncRNA 是前列腺癌抗原 3 (prostate cancer antigen 3, PCA3)。它是一种前列腺特异性的 lncRNA,在前列腺癌中表达异常升高,通过调节前列腺癌细胞的增殖促进前列腺癌发展^[15],与目前临床上已经广泛应用的前列腺癌标志物——前列腺特异性抗原 (prostate specific antigen, PSA) 比较,PCA3 具有更高的灵敏度及特异性,PCA3 可在前列腺癌早期患者的尿液中检测到,这为诊断的取材带来了极大的便利,可以完全实现无创诊断^[16]。HOX 基因的反义基因间 RNA (HOX antisense intergenic RNA, HOTAIR) 被认为是乳腺癌诊断和预后判断的重要标志物,HOTAIR 也是 lncRNA,有研究发现 HOTAIR 在原发性乳腺癌及转移性乳腺癌组织中均显著性上调,其表达明显高于正常乳腺组织,而且 HOTAIR 的表达上调与肿瘤转移和预后具有相关性^[17]。与 HOTAIR 高表达组比较,HOTAIR 低表达的乳腺癌

患者组的无转移生存率和总生存率均明显升高,多因素分析结果显示 HOTAIR 是乳腺癌转移和预后的独立危险因素^[18]。此外,临床研究发现其在结肠癌和肝癌中也出现异常表达,与正常的结肠组织比较,HOTAIR 在结肠癌组织中的表达量增加,而且结肠癌组织中高表达 HOTAIR 的患者预后较差^[19]。有研究发现 HOTAIR 在肝癌患者也呈显著性高表达,而且 HOTAIR 的表达增高可以预测肝移植后肝癌的复发^[20]。进一步对其机制研究发现肿瘤细胞中高表达的 HOTAIR 能够抑制肿瘤转移抑制基因的表达,从而促进肿瘤恶化转移;相反,低表达的 HOTAIR 可使肿瘤细胞失去转移能力,该研究提示 HOTAIR 与肿瘤恶化转移具有相关性。肺腺癌转移相关转录本-1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript-1, MALAT-1) 是参与肿瘤发展过程中的重要一员,该 lncRNA 最初是在非小细胞肺癌患者中发现表达增高,后来发现在肝癌组织中也存在高表达^[21], Xu 等^[22]通过定量 RT-PCR 方法对 9 例肝癌细胞株和 112 例肝癌病例包括 60 例已获得肝移植的病例进行了 MALAT-1 表达分析,他们发现无论在癌细胞株还是临床病例 MALAT-1 表达均上调,而且 MALAT-1 高表达的病例肝移植后更易复发。Lai 等^[23]的进一步研究发现, MALAT-1 不但具有作为肿瘤标志物的潜能,而且还具有预测肝移植后肝癌复发的潜在价值。一项针对肝癌患者的随访结果表明, MALAT-1 可作为一个独立的进展因素用于预测肝癌复发,高表达 MALAT-1 的肝癌患者比低表达患者更容易复发肝癌^[21]。因此,术前及术后监测肝癌患者 MALAT-1 的表达对于选择治疗方案和判断治疗效果具有重要价值。

H19 是胰岛素样生长因子 2 (insulin-like growth factor 2, Igf2) 的印迹基因的产物,是第一个被发现的非编码 RNA 基因,它是一种与癌症密切相关的 lncRNA,研究表明多种癌症患者 H19 表达异常,如膀胱癌、结肠癌、食管癌和肝癌等都存在异常表达。其实 H19 具有癌基因和抑癌基因的双重功能。比如在肝癌中 H19 表达量升高,发挥了类似于癌基因的作用;而有些肿瘤的发生却与 H19 的缺失有关^[24]。因此,不能单纯地观察 H19 表达的增加或减少来判断肿瘤的有无及恶性程度,而是应该从机制的角度进行分析,综合判断其表达增加或减少对肿瘤的影响

及作为肿瘤标志物的应用价值。萌芽同源物 4 内含子转录本 1 (sprouty homolog 4 intronic transcript 1, SPRY4-IT1) 是一个典型内含子型 lncRNA,表达自 SPRY4 基因的内含子,具有 SPRY4 基因的大部分序列。Khaitan 等^[25]研究发现,SPRY4-IT1 的异常表达与神经母细胞瘤的浸润及转移有关。这些效应与 SPRY4-IT1 参与促分裂原活化的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路有密切的关系。该研究组进一步研究发现,SPRY4-IT1 可与 MAPK 信号通路中的多个分子相互结合从而达到促增生和促转移的作用,从而影响肿瘤的发生发展。Gas5 (growth arrest-specific 5) 是一个与细胞增殖相关可抑制肿瘤的 lncRNA。Lu 等^[26]研究发现在胰腺癌组织中 Gas5 的表达明显低于正常胰腺组织,并且 Gas5 在胰腺癌细胞系中的表达显著性下调, Gas5 过表达则明显抑制胰腺癌细胞的增殖及侵袭,提示 Gas5 表达与胰腺癌的发生发展呈负相关。该 lncRNA 作为肿瘤标志物,其表达下调往往预示着胰腺癌的发生或进展。

CCAT1 (colorectal cancer associated transcript1) 是与结直肠癌相关的 lncRNA,在正常人体中,仅小肠及肝脏有微量的 CCAT1 表达,而在其他组织 CCAT1 并不表达。但在结直肠癌患者中,结直肠癌组织及转移病灶组织中,CCAT1 的表达都明显增高,并且部分患者的外周血液标本和粪便标本也可检测出 CCAT1 表达升高。研究发现 CCAT1 的检测对结直肠癌患者具有高度敏感度和特异性,并且 CCAT1 表达水平与临床分期呈正相关,CCAT1 高水平患者生存期明显低于 CCAT1 低水平表达患者,治疗后复发可能性更大,因此结合该指标水平,可以更加精确地划分临床分期,为治疗方案提供有效参考指标^[27-29]。上述研究充分证明 lncRNA 在肿瘤组织及肿瘤患者的体液里存在异常表达,这种异常表达可作为肿瘤的早期诊断及预后评估。

4 结 语

lncRNA 在基因的表达调控中扮演了重要的角色,在肿瘤发生发展中起着重要的作用。lncRNA 可以影响肿瘤的发生、浸润及转移,其在肿瘤组织及肿瘤患者外周体液中存在特异性表达,成为临床早期

诊断和预后判断一类新的肿瘤标志物。近年一些与肿瘤相关的特异的 lncRNA 已经陆续被发现,但是,目前关于 lncRNA 的研究仍不深入,还处在初始阶段,有很多问题仍未解决,如绝大多数 lncRNA 调控肿瘤的机制尚不明确,缺乏高质量的 lncRNA 数据库等,这些问题急需研究者不断地深入研究加以解决,我们相信随着新一代高通量 lncRNA 表达分析技术、基因芯片技术及 lncRNA 相关数据库的建立,人们将最终发现特异性强,敏感度高的 lncRNA 作为新型的肿瘤标志物应用于临床。

参考文献:

- [1] Hauptman N, Glavac D. Long non-coding RNA in cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3):4655-4669.
- [2] Yarmishyn AA, Kurochkin IV. Long noncodingRNAs: a potential novel class of cancer biomarkers[J]. *Front Genet*, 2015, 6: 145.
- [3] Tang JY, Lee JC, Chang YT, et al. Long noncoding RNAs-related diseases, cancers, and drugs [J]. *Scientific World Journal*, 2013, 2013: 943539.
- [4] Feng Y, Hu X, Zhang Y, et al. Methods for the study of long noncoding RNA in cancer cell signaling [J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1165: 115-143.
- [5] Kladi-Skandali A, Michaelidou K, Scorilas A, et al. Long noncoding RNAs in digestive system malignancies: a novel class of cancer biomarkers and therapeutic targets [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2015, 2015: 319861.
- [6] Okazaki Y, Furuno M, Kasukawa T, et al. Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs [J]. *Nature*, 2002, 420(6915): 563-573.
- [7] Kim ED, Sung S. Long noncoding RNA: unveiling hidden layer of gene regulatory networks [J]. *Trends Plant Sci*, 2012, 17(1): 16-21.
- [8] Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long non-coding RNAs [J]. *Mol Cell*, 2011, 43(6): 904-914.
- [9] Chen LL, Carmichael GG. Decoding the function of nuclear long non-coding RNAs [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(3): 357-364.
- [10] Sánchez Y, Huarte M. Long non-coding RNAs: challenges for diagnosis and therapies [J]. *Nucleic Acid Ther*, 2013, 23(1): 15-20.
- [11] Inagaki S, Numata K, Kondo T, et al. Identification and expression analysis of putative mRNA-like non-coding RNA in *Drosophila* [J]. *Genes Cells*, 2005, 10(12): 1163-1173.
- [12] Ravasi T, Suzuki H, Pang KC, et al. Experimental validation of the regulated expression of large numbers of non-coding RNAs from the mouse genome [J]. *Genome Res*, 2006, 16(1): 11-19.
- [13] Mercer TR, Dinger ME, Sunkin SM, et al. Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(2): 716-721.
- [14] Malecova B, Morris KV. Transcriptional gene silencing through epigenetic changes mediated by non-coding RNAs [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2010, 12(2): 214-222.
- [15] Su YJ, Yu J, Huang YQ, et al. Circulating long noncoding RNA as a potential target for prostate cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(6): 13322-13338.
- [16] Pickl JM, Heckmann D, Ratz L, et al. Novel RNA markers in prostate cancer: functional considerations and clinical translation [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 765207.
- [17] Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long noncoding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis [J]. *Nature*, 2010, 464(7291): 1071-1076.
- [18] Costa FF. Non-coding RNAs: meet the masters [J]. *Bioessays*, 2010, 32(7): 599-608.
- [19] Kogo R, Shimamura T, Mimori K, et al. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(20): 6320-6326.
- [20] Yang Z, Zhou L, Wu LM, et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation [J]. *Ann Surg Oncol*, 2011, 18(5): 1243-1250.
- [21] Lin R, Maeda S, Liu C, et al. A large noncoding RNA is a marker for murine hepatocellular carcinomas and a spectrum of human carcinomas [J]. *Oncogene*, 2007, 26(6): 851-858.
- [22] Xu C, Yang M, Tian J, et al. MALAT-1: a long non-coding RNA and its important 3' end functional motif in colorectal cancer metastasis [J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(1): 169-175.
- [23] Lai MC, Yang Z, Zhou L, et al. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(3): 1810-1816.
- [24] DeBaun MR, Niemitz EL, McNeil DE, et al. Epigenetic alterations of H19 and LIT1 distinguish patients with Beckwith-Wiedemann syndrome with cancer and birth defects [J]. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(3): 604-611.
- [25] Khaitan D, Dinger ME, Mazar J, et al. The melanoma-up-regulated long noncoding RNA SPRY4-IT1 modulates apoptosis and invasion [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(11): 3852-3862.
- [26] Lu X, Fang Y, Wang Z, et al. Downregulation of gas5 increases pancreatic cancer cell proliferation by regulating CDK6 [J]. *Cell Tissue Res*, 2013, 354(3): 891-896.
- [27] Alaiyan B, Ilyayev N, Stojadinovic A, et al. Differential expression of colon cancer associated transcript 1 (CCAT1) along the colonic adenoma-carcinoma sequence [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 196.
- [28] He X, Tan X, Wang X, et al. C-Myc-activated long non-coding RNA CCAT1 promotes colon cancer cell proliferation and invasion [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35: 12181-12188.
- [29] Kam Y, Rubinstein A, Naik S, et al. Detection of a long noncoding RNA (CCAT1) in living cells and human adenocarcinoma of colon tissues using FIT-PNA molecular beacons [J]. *Cancer Lett*, 2014, 352: 90-96.