

LncRNAs 在卵巢癌诊断和预后评估研究中的进展

张春兰, 贺红英, 韦露薇, 翟艳芝, 廖 婷
(广西医科大学第四附属医院, 广西 柳州 545000)

摘要: 近期,越来越多的研究关注长链非编码 RNA(LncRNAs)对卵巢癌发展的关键调控作用。在卵巢癌组织及细胞中常常能检测到 LncRNAs 的失调,且失调的 LncRNAs 可极大地促进卵巢癌恶性表型的变化。该文阐述 LncRNAs 对卵巢癌细胞增殖、凋亡、细胞周期、迁移、侵袭、转移和耐药性等细胞活动的作用及影响机制,讨论 LncRNAs 在卵巢癌诊断和预后评估中的价值,建议 LncRNAs 可作为卵巢癌诊断及预后评估的潜在生物标志物,也是卵巢癌治疗的潜在靶点。

关键词: LncRNAs; 卵巢癌; 细胞增殖; 细胞凋亡; 转移; 诊断; 预后

中图分类号: R737.31 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2019)11-0852-09
doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.11.A008

Research Progress on LncRNAs in the Diagnosis and Prognosis Evaluation of Ovarian Cancer

ZHANG Chun-lan, HE Hong-ying, WEI Lu-wei, ZHAI Yan-zhi, LIAO Ting
(The Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545000, China)

Abstract: Recently, many studies have focused on the key regulatory effects of long-chain non-coding RNAs (LncRNAs) on the development of ovarian cancer. Dysregulation of LncRNAs is often detected in ovarian cancer tissues and cells, which can greatly promote the expression of malignant phenotype. Based on recent research, this article describes the effects and mechanisms of LncRNAs on cell proliferation, apoptosis, cell cycle, migration, invasion, metastasis and drug resistance of ovarian cancer, and discusses the values of LncRNAs in the diagnosis and prognosis of ovarian cancer, suggests that LncRNAs may be used as potential biomarkers for diagnosis and prognosis assessment of ovarian cancer and as potential targets for ovarian cancer therapy.

Key words: LncRNAs; ovarian cancer; cell proliferation; apoptosis; metastasis; diagnosis; prognosis

卵巢癌是妇科三大恶性肿瘤之一,其死亡率居妇科恶性肿瘤首位,5年生存率为25%~30%^[1]。造成如此低生存率的原因可能与缺乏早期诊断方法有关。卵巢癌的早期症状不明显,多数患者发现时已是晚期,而晚期患者缺乏有效的治疗方案,因而导致卵巢癌的低生存率^[2]。卵巢癌的发生和发展是一个多阶段过程,包括增殖、凋亡、血管生成、迁移、侵袭和转移,了解卵巢癌发生的分子机制对其诊断、治疗和预防有积极的作用。

长链非编码 RNAs(LncRNAs)是一类碱基长度

超过 200nt 的非编码 RNA^[3]。越来越多的研究显示 LncRNAs 在多种疾病的生理和病理过程中发挥重要作用,包括增殖、凋亡、细胞周期、迁移、侵袭、转移和耐药性,尤其是在恶性肿瘤中^[4]。LncRNAs 可作为多种癌症的致癌基因或者抑癌基因,如膀胱癌、结直肠癌、肾癌、前列腺癌、胶质瘤、多发性骨髓瘤和卵巢癌^[4]。其通过调控下游靶基因的表达,从不同方面影响肿瘤细胞的生物学行为,对肿瘤的发生发展产生促进或者抑制作用。近年来,LncRNAs 成为肿瘤学领域的研究热点,在卵巢癌等多种恶性肿瘤中显示出其可作为诊断和治疗的新兴生物标志物的潜力。

本文将阐述 LncRNAs 在卵巢癌细胞增殖、凋

收稿日期:2019-03-13;修回日期:2019-05-10

通信作者:贺红英,E-mail:hehongying828@outlook.com

亡、细胞周期、迁移、侵袭、转移和耐药过程中的作用,并预测 LncRNAs 在卵巢癌诊断、分子靶向治疗和预后预测中的潜在作用。

1 LncRNAs 在卵巢癌中的作用

1.1 LncRNAs 的作用机制

近年来的研究表明,由于 LncRNAs 含有 RNA 结合结构域、DNA 结合结构域和蛋白结合结构域等多种重要的结构域,因此其可通过多种机制调控基因的表达。在转录水平上,可通过调控组蛋白修饰导致染色质和染色体凝聚;可直接募集转录因子;可与 RNA 聚合酶 II 结合;可调控选择性剪接。在转录后水平上,可调节 mRNA 的稳定性;可与 microRNA 相互作用。在翻译水平上,可募集多聚核糖体。此外,LncRNAs 还可经细胞外囊泡包裹调控相邻细胞的基因表达(Figure 1)^[4]。

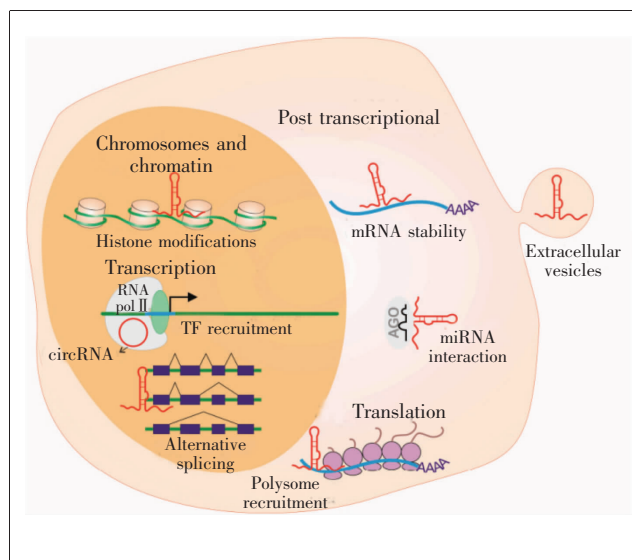


Figure 1 LncRNAs are involved in gene regulation^[4]

虽然国内外对 LncRNAs 领域的研究已趋于白热化,但在 LncRNAs 对卵巢癌细胞活动的影响及在卵巢癌患者的临床应用方面,还是国内科研人员占主要地位。最近的研究已经证明 LncRNAs 在卵巢癌中失调,并通过各种分子机制在肿瘤细胞的增殖、凋亡、细胞周期、迁移、侵袭、转移和耐药性过程中起关键作用(Table 1)。

1.2 LncRNAs 在卵巢癌细胞增殖中的作用

大量的研究表明,LncRNAs 对卵巢癌细胞的增

殖呈正相关或负相关影响。例如,LncRNA NR_026689 不管是在卵巢癌患者的癌组织中还是在人卵巢癌细胞系中均为过表达状态,当 NR_026689 敲除后,卵巢癌细胞的增殖抑制超过 20%^[5]。LncRNA lncBRM 的过表达可促进卵巢癌细胞增殖,而 lncBRM 敲除可抑制卵巢癌细胞的增殖,其机制为:lncBRM 可作为竞争性内源 RNA (ceRNA),与 miR-204 共同竞争 Sox4 mRNA 的结合位点。miR-204 是一个关键的肿瘤抑制 microRNA,当 lncBRM 过表达时,lncBRM 与 miR-204 的结合增加,导致 miR-204 与 Sox4 mRNA 的结合降低,从而抑制 miR-204 介导的 Sox4 mRNA 降解过程。Sox4 表达在多种癌症中上调,是致瘤性和肿瘤干性的重要调节因子,Sox4 降解受抑将导致其致瘤功能的发挥,从而促进卵巢癌细胞的增殖^[6]。此外,杜晓琴^[8]对 LncRNA KCNQ10T1 的研究显示,KCNQ10T1 在卵巢癌组织及卵巢癌细胞中的表达均增高,且 KCNQ10T1 敲减后卵巢癌细胞的增殖显著降低。

Xu 等^[10]和姜欢欢^[16]的研究也表明,EIBC 和 Linc-ROR 等 LncRNAs 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进卵巢癌细胞的增殖。还发现 LncRNA LSINCT5 通过激活 CXCR4/CXCL12 轴促进卵巢癌细胞的增殖^[12]。趋化因子 CXCR4 是 G 蛋白结合受体中的一员,参与多种实体瘤中癌细胞增殖、转移和侵袭,为促癌因子。CXCL12 也是趋化因子,为 CXCR4 的配体。LSINCT5 通过靶向 CXCR4 癌基因,调控其与其配体 CXCL12 的结合,从而影响卵巢癌细胞的增殖、侵袭及迁移^[12]。伍丹丹^[14]采用 RNA pull-down 实验验证了 LncRNA ABHD11-AS1 可通过靶向 RhoC,进而调控其下游分子 P70s6k、MMP2 和 BCL-xL 的表达,最终促进卵巢癌细胞的增殖。

此外,LncRNAs 不仅可与靶基因结合而且还可与 miRNA 结合,进而在卵巢癌细胞增殖中起作用。例如,张清等^[11]采用生物信息学的方法预测,LncRNA FOXD2-AS1 与 miR-150-5p 互补结合后还可与 GRP94 mRNA 结合,结合位点均为 miR-150-5p 的“AACCCUC”序列。FOXD2-AS1 在卵巢癌细胞增殖中的作用机制为:FOXD2-AS1 在卵巢癌组织及细胞中均高表达,过表达的 FOXD2-AS1 与 miR-150-5p 互补结合后,再进一步与 GRP94 mRNA 结合,导致 GRP94 蛋白的表达增加。GRP94 是一种高度保守的

Table 1 Role of LncRNAs in proliferation, apoptosis, migration, invasion, metastasis and drug resistance of ovarian cancer

	LncRNAs	Targets	References	Regulation
Up-regulation	NR_026689		Zhang ^[5]	Proliferation(+); apoptosis(-); migration(+); invasion(+)
	LncBRM	Sox4	Xi ^[6]	Proliferation(+); migration(+); invasion(+)
	UCA1	MMP2, MMP9	Wang ^[7]	Migration(+); invasion(+)
	KCNQ10T1		Du ^[8]	Proliferation(+); invasion(+); metastasis(+)
	LINC00152	MCL-1	Chen ^[9]	Proliferation(+); apoptosis(-); growth(+)
	EIBC	Wnt/ β -catenin pathway	Xu ^[10]	Proliferation(+); metastasis(+); cisplatin-resistance(+)
	FOXD2-AS1	MiR-150, GRP94, Wnt/ β -catenin pathway	Zhang ^[11]	Proliferation(+); migration(+)
	LSINCT5	CXCR4/CXCL12axis	Long ^[12]	Proliferation(+); migration(+); invasion(+)
	FAL1	MEK/ERK pathway	Wang ^[13]	Apoptosis(-); migration(+); invasion(+)
	ABHD11-AS1	RhoC, P70s6k, MMP2, BCL-xL	Wu ^[14]	Proliferation(+); apoptosis(-); migration(+); invasion(+); growth(+)
	MNX1-AS1		Lyu ^[15]	Proliferation(+); apoptosis(-); migration(+); invasion(+); metastasis(+); growth(+)
	Linc-ROR	Wnt/ β -catenin pathway	Jiang ^[16]	Proliferation(+); migration(+); invasion(+); metastasis(+); EMT(+)
	Lnc-OC1	MiR-34a, miR-34c	Tao ^[17]	Proliferation(+); migration(+)
	HOTAIR	Atg7	Yu ^[18]	Cisplatin-resistance(+)
		HOXA7	Liu ^[19]	Cisplatin-resistance(+)
		MiR-214, miR-217, PIK3R3	Dong ^[20]	Proliferation(+); invasion(+); metastasis(+)
		I κ -B α , NF- κ B	Ozes ^[21]	Platinum-resistance(+)
	HOST2	MiR-let-7	Gao ^[22]	Proliferation(+); migration(+); invasion(+)
Down-regulation	GAS5	PTEN	Wan ^[23]	Metastasis(-); invasion(-)
	RP11-190D6.2	WWOX	Tong ^[24]	Proliferation(-); migration(-); invasion(-)
	MEG3	ARPC2	Xu ^[25]	Metastasis(-)
	SPRY4-IT1		Yu ^[26]	Proliferation(-); apoptosis(+); migration(-); invasion(-); metastasis(-); EMT(-)
	Linc00312	Bcl-2/Caspase-3 pathway	Zhang ^[27]	Cisplatin-resistance(-); apoptosis(+)
	NBAT-1	ERK1/2, AKT pathway	Yan ^[28]	Proliferation(-); migration(-); invasion(-)

分子伴侣,可通过活化 Wnt/ β -catenin 等多种信号通路促进肿瘤的发生的发展。因此,GRP94 蛋白表达增加后,可激活下游的信号通路(如 Wnt/ β -catenin 信号通路),进而促进卵巢癌细胞的增殖。

还发现 LncRNA LOC100288181(也称为 Lnc-OC1)的致癌功能与其抑制 miR-34a 和 miR-34c 的水平有密切的关系。而且 Lnc-OC1 与 miR-34a/34c 形成的 Lnc-OC1-miR-34a/34c 抑制反馈回路受肿瘤抑制基因 *p53* 在转录后水平的调控^[17]。Gao 等^[22]的研究也证实,LncRNA HOST2 可作为肿瘤抑制 miR-let-7b 的分子海绵,抑制 miR-let-7b 的功能。MiR-let-7b 可通过与 mRNA 中的不完美互补序列结合,从而诱导 mRNA 降解和翻译抑制,最终抑制靶基因(主要是一些致癌基因,如 *HMGA2*, *c-Myc*, *Dicer* 和 *Imp3*)的表达。因此,HOST2 在卵巢癌细胞中的作用机制为:HOST2 通过抑制 miR-let-7b 的功能,进而导

致一些致癌基因的表达增加,从而促进卵巢癌的增殖^[22]。

相反,另一些 LncRNAs 在卵巢癌中下调并在卵巢癌细胞增殖中起抑制作用。例如,LncRNA RP11-190D6.2 在卵巢癌组织及细胞中显著降低,过表达的 RP11-190D6.2 可通过增加 WWOX 的表达进而抑制卵巢癌细胞的增殖^[24]。LncRNA SPRY4-IT1 在卵巢癌中低表达,而其过表达可抑制卵巢癌细胞的增殖^[26]。还发现 LncRNA NBAT-1 在卵巢癌中低表达,其过表达可通过靶向 ERK1/2 和 AKT 信号通路抑制卵巢癌细胞的增殖^[28]。

总之,有些 LncRNAs(如 NR_026689、LncBRM、UCA1 等)在卵巢癌中呈高表达,而有些 LncRNAs(如 GAS5、RP11-190D6.2、MEG3 等)在卵巢癌中呈低表达。这两种 LncRNAs 在卵巢癌细胞增殖的调节上也具有相反的作用。但它们的作用靶点及作用机

制类似,或靶向基因,进一步调控其下游信号通路;或作为 ceRNA,与 microRNA 共同竞争 mRNA 的结合位点。目前对 LncRNAs 在肿瘤细胞中作用机制的研究还不够深入,但是已有少数研究关注 LncRNAs 在表观遗传修饰上的作用,如对 DNA 甲基化的修饰及组蛋白的修饰,而许多细胞生长增殖相关基因启动子区域的异常甲基化都与该基因的失活有关,在肿瘤细胞中 LncRNAs 对这些基因的表观遗传调控将可能抑制肿瘤细胞的增殖,进而治疗恶性肿瘤。但是此种治疗方法,也可能会造成基因组的不稳定并增加其他组织罹患恶性肿瘤的风险,因此还需要进一步深入研究。

1.3 LncRNAs 在卵巢癌细胞凋亡中的作用

LncRNAs 也在卵巢癌细胞凋亡中起调节作用。例如,LncRNANR_026689 在卵巢癌中高表达,其敲除可促进卵巢癌细胞的凋亡,并激活 caspase-3 和 caspase-9 启动内源细胞凋亡信号通路^[5]。LncRNA LINC00152 对卵巢癌凋亡的调控也是基于 ceRNA 理论,LINC00152 作为 ceRNA,与 miR-125b 直接结合,抑制其功能。当 LINC00152 过表达时,与 miR-125b 共同竞争 *MCL-1* mRNA 的结合位点,导致 miR-125b 对 *MCL-1* mRNA 3'UTR 端的抑制作用降低,进而促进 *MCL-1* 介导的线粒体抗凋亡途径,最终抑制卵巢癌细胞凋亡^[9]。王晓彤等^[13]发现 LncRNA FAL1 可通过激活 MEK/ERK 通路及 MAPK 信号通路抑制卵巢癌细胞的凋亡。LncRNA ABHD11-AS1 可促进 RhoC 及其下游分子 BCL-xL(BCL-2 家族成员)的表达,降低卵巢癌细胞的凋亡^[14]。吕雁^[15]通过 AnnexinV/PI 双染流式细胞术和 Hoechst 33258 染色的方法研究发现 LncRNA MNX1-AS1 敲除后,卵巢癌细胞凋亡增加,且促凋亡蛋白 Bax 表达上调,同时抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达下调。即 MNX1-AS1 通过促进内源性线粒体依赖性抗凋亡途径抑制卵巢癌细胞的凋亡。

另一方面,一些 LncRNAs 对卵巢癌细胞凋亡具有促进作用。LncRNA SPRY4-IT1 在卵巢癌组织及细胞中均低表达,SPRY4-IT1 过表达可促进卵巢癌细胞的凋亡,同时也增加促凋亡因子活性 caspase-3 和活性 caspase-9 的表达,降低抗凋亡因子 Bcl-2 的表达^[26]。还发现 LncRNA Linc00312 在卵巢癌上皮组织和卵巢癌细胞中也均呈低表达状态,Linc00312

过表达增加 Bax、Caspase-3 和 Caspase-9 的表达,降低 Bcl-2 的表达^[27]。

总之,从目前的研究来看,LncRNAs 主要是通过线粒体依赖的凋亡途径来调节卵巢癌细胞的凋亡,且具有促凋亡和抗凋亡双重特性。凋亡逃逸是肿瘤治疗及发生耐药性的原因之一,有研究显示 LncRNA MEG3 启动子区域组蛋白 H3K27me3 甲基化是诱导肿瘤细胞逃逸的原因^[29],那么其他 LncRNAs 是否也参与肿瘤细胞的凋亡逃逸过程,针对 LncRNAs 启动子区域组蛋白修饰的拮抗剂是否可以规避凋亡逃逸,是恶性肿瘤治疗尚需要解决的问题。

1.4 LncRNAs 在卵巢癌细胞周期中的作用

吕雁^[15]采用流式细胞术证实,MNX1-AS1 敲除可通过下调 CDK4 和 Cyclin D1 等细胞周期标志蛋白的表达来改变卵巢癌细胞的细胞周期,具体为 MNX1-AS1 敲除可增加处于 G₀/G₁ 期的细胞比例,而降低处于 S 期的细胞比例。Chang 等^[30]的研究发现 LncRNA HOTAIR 在卵巢癌组织和细胞中高表达,且作为 ceRNA,与 miR-206 共同竞争 *CCND1* 和 *CCND2* mRNA 的结合位点,进而调整卵巢癌细胞周期的进程。具体为:HOTAIR 过表达可抑制 miR-206 的功能,进而促进 *CCND1* 和 *CCND2* 的表达,导致 G₀/G₁ 期细胞占比降低而 S 期细胞占比增加。S 期为 DNA 合成期,主要是 DNA、组蛋白及复制所需酶的合成,S 期细胞占比增加表示细胞在积极地储备有丝分裂所需的必要物质,对卵巢癌细胞的增殖等有促进作用。Li 等^[31]也发现 HOTAIR 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,降低 G₁ 期细胞占比而增加 S 期细胞占比。此外,Yu 等^[26]的研究显示 SPRY4-IT1 过表达可将 HO8910 卵巢癌细胞 S 期细胞占比从 28% 提高至 39%,将 SKOV3 卵巢癌细胞 S 期细胞占比从 17% 提高至 40%。

总之,LncRNAs 通过结合靶基因或者作为 ceRNA 调控卵巢癌细胞周期的进展,增加 S 期细胞占比,为卵巢癌细胞的有丝分裂过程提供必要的物质储备。有丝分裂灾难是一种新的细胞死亡形式,是有丝分裂过程失调而发生的细胞死亡现象,是一种内源性肿瘤抑制机制。LncRNAs 对细胞周期的调控,可影响有丝分裂过程,那么直接靶向 LncRNAs 的方式是否可诱导有丝分裂灾难,进而从内源性机

制上抑制肿瘤细胞生长,这将是新的恶性肿瘤治疗思路。

1.5 LncRNAs 在卵巢癌细胞耐药性中的作用

手术联合铂/紫杉醇是晚期卵巢癌患者的主要治疗方法^[32]。但是大多数患者化疗后出现药物抗性,5年生存率仅为30%^[33]。近几年,已发现越来越多的与化疗耐药性相关的LncRNAs,如LncRNA EBIC, lncRNA HOTAIR 和 LncRNA Linc00312^[10,19,27]。LncRNA EBIC在顺铂抗性细胞系CP70中的表达显著高于其在顺铂敏感细胞系A2789中的表达,且EBIC过表达增加A2789细胞对顺铂的抗性,EBIC敲减增加CP70细胞对顺铂的敏感性。这些结果表明EBIC表达的增加与顺铂抗性有密切的关系。之后的研究进一步证实,Wnt/ β -catenin信号通路参与EBIC对卵巢癌细胞耐药性的调控作用^[10]。Yu等^[18]还发现随着顺铂浓度的增加,自噬相关蛋白Atg7和LC3 II/I的表达也增加,此外LncRNA HOTAIR敲减可通过抑制顺铂诱导的自噬途径增加卵巢癌细胞对顺铂的敏感性。Liu等^[19]的研究也显示HOTAIR沉默可增加卵巢癌细胞的化疗敏感性,并下调HOXA7的表达。

上述LncRNAs均与增加卵巢癌细胞对化疗药物的抗性有关,而有些LncRNAs又与增加卵巢癌细胞对化疗药物的敏感性有关。比如,LncRNA Linc00312可通过激活Bcl-2/caspase-3信号通路增强顺铂耐药细胞对顺铂的敏感性^[27]。

总之,LncRNAs根据不同的作用机制分别参与卵巢癌细胞对化疗药物的抗性及敏感性。之前在多中心进行了BC-819对无法切除的胰腺癌患者的1/2a期研究,这是一种侧重于LncRNA H19的新型治疗策略。BC-819是一种双链DNA质粒,可调节由H19序列调控的白喉毒素基因的表达。该研究表明,在CT或内镜超声引导下注射BC-819(在适用剂量下)是安全的,并提示BC-819局部给药联合全身化疗可为胰腺癌的治疗提供更好的疗效^[34],表明BC-819注射可能是临床治疗的胰腺癌的新型策略。但此方法是否适用于其他癌症,还有待进一步试验。因此LncRNAs可作为一个分子靶标参与肿瘤的初期治疗,但是LncRNAs种类众多、功能复杂,在各类肿瘤中的治疗作用还需要更多的实验研究及临床试验的验证。

1.6 LncRNAs 在卵巢癌细胞迁移、侵袭、转移和上皮间质转化中的作用

肿瘤转移是治疗各种类型癌症的主要挑战,通常在多数卵巢癌患者中均可观察到其向腹腔内的远处转移^[35]。LncRNA NR_026689敲除可抑制约50%以上卵巢癌细胞的迁移能力,抑制其约70%以上侵袭能力^[5]。杜晓琴^[8]的研究表明,KCNQ10T1敲减可降低卵巢癌细胞的侵袭。Xu等^[10]和姜欢欢^[16]的研究也表明,EIBC和Linc-ROR等LncRNAs通过激活Wnt/ β -catenin信号通路促进卵巢癌细胞的迁移、侵袭和转移。Wnt/ β -catenin信号通路与上皮细胞向间充质转化(EMT)过程有密切的关系。EMT是指上皮肿瘤细胞丧失细胞—细胞间黏附的能力,迁移和侵袭能力增加,从而易于与原发肿瘤分离并作为单个细胞向周围组织浸润和侵入邻近循环系统,使肿瘤细胞最终转移到其他的组织或器官形成转移灶。在正常情况下,Wnt/ β -catenin信号通路中的 β -catenin(间质性标志物)与E-cadherin(上皮性标志物)结合形成E-cadherin/ β -catenin复合体,参与构成细胞骨架,维持细胞间的黏附能力。当Wnt/ β -catenin通路异常激活时(比如由EIBC和Linc-ROR等LncRNAs激活),导致 β -catenin磷酸化,细胞黏附能力降低,从而导致细胞的迁移和侵袭能力增强^[16]。

王晓彤等^[13]还发现LncRNA FAL1可激活MEK/ERK通路,持续激活的ERK通路可促进正常细胞向肿瘤表型转化。Ras同源基因家族成员C(RhoC)是参与细胞骨架重组、细胞黏附和迁移的重要Rho GTPase,尤其是在调控卵巢癌肿瘤发生和发展中^[36]。伍丹丹^[14]的研究表明,LncRNA ABHD11-AS1在卵巢癌中高表达,且可通过调控RhoC及其下游信号分子P70s6k、MMP2和BCL-xL的表达促进卵巢癌细胞的转移及侵袭。据报道,P70s6k(P70核糖体S6激酶)是PI3K/AKT信号通路的下游效应分子,参与蛋白质合成并促进卵巢癌的侵袭和转移^[37]。由此可见,PI3K/AKT通路可能也参与LncRNA对卵巢癌细胞行为的调节作用。Jin^[38]的研究证实了这一点,LncRNA MALAT1在卵巢癌组织及细胞中上调,且可通过PI3K/AKT信号通路促进卵巢癌细胞的侵袭、转移以及EMT。

同样,LncRNAs不仅通过靶向基因而且通过海绵miRNA调控卵巢癌细胞的迁移、侵袭和转移。

LncRNA FOXD2-AS1 可通过靶向 miR-150-5p 促进卵巢癌细胞的迁移能力^[11]。LncRNA Lnc-OC1 通过 Lnc-OC1-miR-34a/34c 轴促进卵巢癌细胞的迁移及侵袭,其机制可能与 Lnc-OC1 降低上皮标志物 E-cadherin 的表达,增加间质标志物 SNAIL 的表达,促进 EMT 过程。此研究还通过对卵巢癌细胞中 F-肌动蛋白的染色结果表明,对照组比 Lnc-OC1 沉默组出现更多的纺锤样形态,进一步提示 Lnc-OC1 可促进卵巢癌细胞的迁移及侵袭^[17]。董立军^[20]的研究还发现 LncRNA HOTAIR 和 PIK3R3 互为 ceRNA,均为 miR-214 和 miR-217 的潜在靶点。HOTAIR 与 PIK3R3 通过竞争性结合 miR-214 和 miR-217 来调控 PIK3R3 的表达,进而促进卵巢癌细胞的转移和侵袭能力。

相反,另一些 LncRNAs 被认为是卵巢癌细胞迁移、侵袭和转移中的抑制剂。LncRNA GAS5 在卵巢癌组织及细胞中呈低表达,GAS5 过表达可通过增加抑癌蛋白 PTEN 的表达抑制卵巢癌细胞的侵袭能力^[23]。LncRNA RP11-190D62、LncRNA MEG3、LncRNA SPRY4-IT1 以及 LncRNA NBAT-1 等均可通过不同的信号通路抑制卵巢癌细胞的迁移、侵袭、转移和 EMT^[24-26,28]。

总之,LncRNAs 可通过调控 EMT 及细胞外基质等途径参与卵巢癌细胞的迁移、侵袭和转移过程,在这些过程中发挥促进作用或者抑制作用,进而影响卵巢癌患者的预后,一些 LncRNAs 可作为肿瘤预后的潜在生物标志物,而且多种 LncRNAs 联合用于肿瘤患者的预后预测是将来要进行深入研究的问题。但是目前尚未有临床研究表明 LncRNAs 可用于实际判断卵巢癌的预后,因此 LncRNAs 的预后价值仅限于临床前研究,目前尚无临床应用价值。

1.7 LncRNAs 在卵巢癌诊断中的作用

Guo 等^[39]提出了 miRNA-LncRNA 组合的定义,主要包括 2 个 miRNA(miR-637 和 miR-129-5p)和 3 个 LncRNAs(LINC01234 和 CCDC144NL-AS1)。已知 *BRCA1* 和 *BRCA2* 突变是卵巢癌发展的危险因素,而铂类化疗可诱导 *BRCA1/2* 突变。因此鉴定经铂类化疗后 *BRCA1/2* 是否突变是卵巢癌预后评估的关键。此 miRNA-LncRNAs 组合可根据 *BRCA1/2* 是否突变将经铂类化疗的卵巢癌患者(具有野生型 *BRCA1/2* 特征)准确的分为 2 类:预后良好的患者

(*BRCA1/2* 未突变)和预后不良(*BRCA1/2* 突变)的患者。另外,有些 LncRNAs 在卵巢癌细胞中下调并且与组织学分级、FIGO 分期和淋巴结转移显著相关,例如 GAS5、RP11-190D6.2 和 NBAT-1 等^[23,24,28]。还发现许多 LncRNAs 在卵巢癌细胞中上调并且与卵巢癌患者的组织学分级、FIGO 分期、淋巴结转移、CA125 表达水平、无进展生存期(PFS)、总生存期(OS)和预后不良密切相关,包括 LncBRM、KCNQ10T1、LINC00152、EIBC、LSINCT5、ABHD11-AS1、MNX1-AS1、Linc-ROR、Lnc-OC1 和 HOTAIR 等^[6,8-10,12,14-17,20]。

总之,这些特异性 LncRNAs 的异常表达可以预测癌症的进展,因此这些 LncRNAs 可作为卵巢癌诊断和预后的独立生物标志物。而且,多数 LncRNAs 在癌症患者的体液中是稳定存在的,且在血浆和尿液中均可检测到,这些因素使得 LncRNAs 在作为非侵入性生物标志物和癌症治疗靶点的应用上成为有吸引力的选择。LncRNAs 在许多方面与蛋白质编码基因不同,其具有更高的丰度,在一个给定的癌症亚型中可观察到更大量的 LncRNAs 表达调节,这为基于 LncRNAs 的生物标志物检测癌症亚型特异性提供了更大的窗口,亚型/组织特异性 LncRNA 表达对于开发新型诊断生物标志物和个性化治疗至关重要。由于 LncRNAs 的分子量很大,因此它们可以通过与各种蛋白质、转录调节因子、mRNA(互补)和 DNA 序列相互作用,折叠成复杂的二级/三级结构或支架,这可能有助于癌症的发生和发展。LncRNAs 中存在大量调节性相互作用位点,这为基于结构而开发的新型抗癌药物提供了更广泛的平台。此外,鉴于它们参与调控多种细胞信号传导途径和组织特异性表达,LncRNAs 可用于制定特定癌症亚型诊断和靶向治疗的新策略。

2 LncRNAs 潜在的临床应用价值

Yang 等^[40]基于从 Gene Expression Omnibus 中提取的 GSE9891 和 GSE301610C 微阵列数据集,鉴定出有 6 种 LncRNAs 与卵巢癌的复发有关,包括 RUNX1-IT1、MALAT1、H19、HOTAIRM1、LOC100190986 和 AL132709.8。李雨薇等^[41]也通过综合多篇文献报道得出 HOTAIR 在多种恶性肿瘤(如卵巢癌)中表达上调,且与不良预后有密切关系。HOTAIR 可通过与

甲基化酶复合体 PRC2 共同作用, 调控组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸的三甲基化, 从而影响 *PTEN* 和 *p21* 等基因的表达, 并由这些基因进一步影响 Wnt、Akt 及 p53 等信号通路, 从而在卵巢癌细胞的增殖、凋亡、细胞周期、迁移、侵袭、转移和 EMT 等过程中发挥重要功能。

在耐药性方面, LncRNAs 也具有至关重要的临床应用。Wang 等^[42]基于 Gene Expression Omnibus 数据库中提取的数据, 预测出了 7 种 LncRNAs (XR_948297、XR_947831、XR_938728、XR_938392、NR_103801、NR_073113 和 NR_036503) 可用于预测卵巢癌患者紫杉醇化疗耐药性, 且这 7 种 LncRNAs 均与胰岛素分泌途径正相关。此外 Liu 等^[43]的研究表明, 卡铂和多西紫杉醇可调控 LncRNA PVT1, 此机制可能与卵巢癌中卡铂和多西紫杉醇导致的抗癌作用呈正相关, 可能是因为 PVT1 调控 p53 和 TIMP1 的原因。此外, LncRNA RP5-1120P11.1 的表达与卵巢癌患者的预后呈正相关, 机制可能与其调控多西紫杉醇抗性相关 *ABCC10* 基因的表达有关^[44]。

虽然目前已在较大样本的临床活检标本中检测到多种 LncRNAs 表达异常与多种肿瘤的复发、转移及预后密切相关, 提示 LncRNAs 可作为新的潜在的肿瘤预后分子标志物, 但如果能针对这些 LncRNAs 进一步研发高敏感性及高特异性的检测试剂盒, 尤其是可进行大样本量检测并验证肿瘤患者血清中 LncRNAs 水平, 将对恶性肿瘤的临床早期诊断、预后预测等具有重要的应用价值。目前 RNAi 技术已经成功且广泛地应用于真核生物基因的靶向调控, 已有多家国际知名制药公司针对一些重要编码蛋白的基因的 mRNA 研发 RNAi 技术, 将相应的 RNAi 核酸序列作为小分子药物应用于恶性肿瘤的靶向治疗, 并已经取得了较好的进展, 多条 RNAi 序列已进入了临床试验^[45]。鉴于 LncRNAs 在肿瘤发生发展中的重要作用, 希望可以筛选靶向特定 LncRNAs 的高度特性性 RNAi 序列, 经临床前实验和临床试验, 应用于恶性肿瘤的靶向治疗。

总之, 通过对 LncRNAs 在卵巢癌发生发展、预后及耐药性方面的深入研究, 将进一步拓展人们对恶性肿瘤病因学的认识, 为预防及治疗恶性肿瘤提供重要的理论依据。靶向特异性 LncRNA 的治疗, 或针对 LncRNA 提高肿瘤细胞化疗敏感性的治疗, 将

是未来恶性肿瘤治疗的新方向。

3 小结与展望

LncRNAs 是卵巢癌发生和发展过程中新的参与者, 对其调控卵巢癌进展分子机制的理解仍处于初期阶段。虽然 LncRNAs 已经成为肿瘤研究领域的热点, 但对它们发挥生物学功能机制的研究时间还尚短, 还有很多不明确的地方。比如, 目前已发现有些 LncRNAs (如 HOTAIR) 可通过调控组蛋白 H3K27me3 等表观遗传修饰, 进而影响基因表达及信号通路调控。但组蛋白修饰的调控应发生在全基因组层面, 因此推断还有众多基因受其调控, 这些基因又通过哪些下游分子及信号通路参与肿瘤的发生发展, 还需要进一步深入探索。此外, 随着深度测序及识别肿瘤的发展, 已发现 LncRNAs 与外泌体、环状 RNA 等之前未注意的材料相关。例如, 来自肿瘤干细胞样细胞 (CSCs) 的外泌体可转移 linc-ROR, 诱导 EMT 的发生, 并制备局部肿瘤微环境和远处转移生态位^[46]。LncRNAs、miRNAs、外泌体和环状 RNA 之间的联系非常有趣, 敦促我们进一步探索其中的关系。此外, 中国科研工作者在 LncRNAs 领域作出了突出的贡献, 2018 年 10 月 4 日, *Molecular Cell* 发表了浙江大学林爱福课题组发表的关于 LncRNA CamK-A-CaMK 轴通过 NF- κ B 信号通路诱导肿瘤微环境重塑的研究论文, 研究者发现 CamK-A 可以促进 Warburg 效应, 并进一步诱导巨噬细胞聚集、血管生成及肿瘤发展, 并建议 CamK-A 作为肿瘤治疗的潜在生物靶点^[47]。LncRNAs 在其他领域也有重要的调节作用, 2017 年 11 月 24 号, *Science* 发表了第二军医大学曹雪涛课题组成员王品博士关于 lncRNA ACOD1 通过结合细胞内代谢酶 GOT2 调控细胞内代谢促进病毒逃逸的新发现, 这已经是曹雪涛课题组在 *Science* 上发表的 LncRNAs 领域的第 2 篇文章了。这些研究均预示着 LncRNAs 在恶性肿瘤和其他疾病 (如病毒感染类疾病) 的治疗及诊断中有着重要的潜在应用前景。

总之, LncRNAs 在卵巢癌细胞增殖、凋亡、细胞周期、迁移、侵袭、转移、耐药性等方面起重要作用, 在卵巢癌发展中具有致癌性或抑癌性双重作用。LncRNAs 的功能以及卵巢癌中 LncRNA 和 miRNA

之间的相互作用可能会受到越来越多的关注。建议一些典型的 LncRNAs(如 HOTAIR 等)可作为卵巢癌的潜在治疗靶点和生物标志物。

参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.
- [2] Yeung TL, Leung CS, Yip KP, et al. Cellular and molecular processes in ovarian cancer metastasis: a review in the theme: cell and molecular processes in cancer metastasis [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 309(7): 444-456.
- [3] The lncRNA ARLNC1 promotes prostate tumorigenesis[J]. Cancer Discov, 2018, 8(7): 12.
- [4] Fernandes JCR, Acuna SM, Aoki JI, et al. Long non-coding RNAs in the regulation of gene expression: physiology and disease[J]. Noncoding RNA, 2019, 5(1): 17.
- [5] Zhang X, Li S, Dong C, et al. Knockdown of long noncoding RNA NR_026689 inhibits proliferation and invasion and increases apoptosis in ovarian carcinoma HO-8910PM cells[J]. Oncol Res, 2017, 25(2): 259-265.
- [6] Xi J, Feng J, Zeng S. Long noncoding RNA lncBRM facilitates the proliferation, migration and invasion of ovarian cancer cells via upregulation of sox4 [J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(11): 2180-2189.
- [7] Wang F, Zhou JP, Xie XJ, et al. Invasion and migration effect and mechanism of long non-coding RNA UCA1 in ovarian cancer cells[J]. Journal of Modern Oncology, 2015, 23(1): 1-4. [王帆, 周戡平, 谢小娟, 等. LncRNA UCA1 对卵巢癌细胞侵袭及迁移的影响及机制 [J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(1): 1-4.]
- [8] Du XQ. Expression and clinical significance of lncRNA KCNQ10T1 in ovarian cancer tissues[J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2017, 44(5): 329-333. [杜晓琴. LncRNA KCNQ10T1 在卵巢癌组织中的表达及其临床意义[J]. 肿瘤防治研究, 2017, 44(5): 329-333.]
- [9] Chen P, Fang X, Xia B, et al. Long noncoding RNA LINC00152 promotes cell proliferation through competitively binding endogenous miR-125b with MCL-1 by regulating mitochondrial apoptosis pathways in ovarian cancer[J]. Cancer Med, 2018, 7(9): 4530-4541.
- [10] Xu QF, Tang YX, Wang X. LncRNA EBIC promoted proliferation, metastasis and cisplatin resistance of ovarian cancer cells and predicted poor survival in ovarian cancer patients [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(14): 4440-4447.
- [11] Zhang Q, Song QJ, Hou L, et al. Effect of long non-coding RNA FOXD2-AS1 on proliferation and migration of ovarian cancer cells [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2018, 45(13): 662-666. [张清, 宋晓婕, 侯俐, 等. 长链非编码 RNA FOXD2-AS1 对卵巢癌细胞增殖和迁移的影响[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(13): 662-666.]
- [12] Long XT. Functions and mechanistic studies of LSINCT5 in the regulation of malignant progress in epithelial ovarian cancer[D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2018. [龙行涛. 长链非编码 RNA-LSINCT5 调控上皮性卵巢癌恶性进展及机制研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2018.]
- [13] Wang XT, Tan WH, Llu W. Effect of FAL1 on biological behavior of epithelial ovarian cancer and its mechanism[J]. Journal of International Obstetrics and Gynecology, 2018, 45(2): 221-225. [王晓彤, 谭文华, 刘巍. 抑制长链非编码 RNA FAL1 表达对上皮性卵巢癌细胞生物学行为的影响及其分子机制 [J]. 国际妇产科学杂志, 2018, 45(2): 221-225.]
- [14] Wu DD. Role of the lncRNA ABHD11-AS1 in the tumorigenesis and progression of epithelial ovarian cancer through targeted regulation of RhoC [D]. Shenyang: China Medical University, 2018. [伍丹丹. lncRNA ABHD11-AS1 通过靶向调控 RhoC 在上皮性卵巢癌的发生和发展中的作用[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.]
- [15] Lyu Y. Study on the role and mechanism of MNX1-AS1 in the development and progression of ovarian cancer[D]. Jinan: Shandong University, 2018. [吕雁. MNX1-AS1 在卵巢癌发生发展进程中作用和机制的研究[D]. 济南: 山东大学, 2018.]
- [16] Jiang HH. LincRNA-ROR induces epithelial-to-mesenchymal transition in high-grade ovarian serous cancer by increasing Wnt/ β -catenin signaling[D]. Qingdao: Qingdao University, 2017. [姜欢欢. 长链非编码 RNA-ROR 通过 Wnt 通路诱导高级别卵巢癌 EMT 特性的机制研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2017.]
- [17] Tao F, Tian X, Lu M, et al. A novel lncRNA, lnc-OC1, promotes ovarian cancer cell proliferation and migration by sponging miR-34a and miR-34c[J]. J Genet Genomics, 2018, 45(3): 137-145.
- [18] Yu Y, Zhang X, Tian H, et al. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR increases cisplatin sensitivity in ovarian cancer by inhibiting cisplatin-induced autophagy[J]. J BUON, 2018, 23(5): 1396-1401.
- [19] Liu S, Lei H, Luo F, et al. The effect of lncRNA HOTAIR on chemoresistance of ovarian cancer through regulation of HOXA7[J]. Biol Chem, 2018, 399(5): 485-497.
- [20] Dong LJ. Functions and mechanistic studies of HOTAIR in the regulation of malignant progress in epithelial ovarian cancer [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2016. [董立军. HOTAIR 促进卵巢上皮性癌恶性生物学行为及其机制的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2016.]
- [21] Ozes AR, Miller DF, Ozes ON, et al. NF-kappaB-HOTAIR axis links DNA damage response, chemoresistance and cellular senescence in ovarian cancer [J]. Oncogene, 2016, 35(41): 5350-5361.
- [22] Gao Y, Meng H, Liu S, et al. LncRNA-HOST2 regulates cell biological behaviors in epithelial ovarian cancer

- through a mechanism involving microRNA let-7b [J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(3):841–852.
- [23] Wan JH, Chen HP. The expression of long noncoding RNA GAS5 and its role for cell invasion in ovarian cancer [J]. *The Journal of Practical Medicine*, 2016, 32(24):4062–4065. [万金华, 陈会平. 长链非编码 RNA GAS5 在卵巢癌中的表达及对肿瘤侵袭的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2016, 32(24):4062–4065.]
- [24] Tong W, Yang L, Yu Q, et al. A new tumor suppressor lncRNA RP11-190D6.2 inhibits the proliferation, migration, and invasion of epithelial ovarian cancer cells [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10:1227–1235.
- [25] Xu HZ, Shen XQ, Lu J. Expressions of lncRNA MEG3 and its intronic miR-770-5p in epithelial ovarian cancer and their clinical significances [J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2015, 22 (14):1115–1119. [徐辉姿, 沈孝青, 陆佳, 等. 上皮性卵巢癌组织 MEG3 及其内含子 miR-770-5p 表达临床意义分析 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2015, 22(14):1115–1119.]
- [26] Yu J, Han Q, Cui Y. Decreased long non-coding RNA SPRY4-IT1 contributes to ovarian cancer cell metastasis partly via affecting epithelial-mesenchymal transition [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7):1010428317709129.
- [27] Zhang C, Wang M, Shi C, et al. Long non-coding RNA Linc00312 modulates the sensitivity of ovarian cancer to cisplatin via the bcl-2/caspase-3 signaling pathway [J]. *Biosci Trends*, 2018, 12(3):309–316.
- [28] Yan C, Jiang Y, Wan Y, et al. Long noncoding RNA NBAT-1 suppresses tumorigenesis and predicts favorable prognosis in ovarian cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10:1993–2002.
- [29] Dong JJ. H3K27me3 aggregate promoter of MEG3 lncRNA and induce apoptosis escape of RPMI8226 cell through MDM2/p53 pathway [D]. Hefei: Anhui Medical University, 2015. [董娟娟. H3K27me3 聚集 MEG3 lncRNA 启动子通过 MDM2/p53 途径诱导多发性骨髓瘤 RPMI8226 细胞凋亡逃逸 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2015.]
- [30] Chang L, Guo R, Yuan Z, et al. LncRNA HOTAIR regulates CCND1 and CCND2 expression by sponging miR-206 in ovarian cancer [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(4):1289–1303.
- [31] Li J, Yang S, Su N, et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR leads to chemoresistance by activating the Wnt/beta-catenin pathway in human ovarian cancer [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(2):2057–2065.
- [32] Xu J, Wu J, Fu C, et al. Multidrug resistant lncRNA profile in chemotherapeutic sensitive and resistant ovarian cancer cells [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(6):5034–5043.
- [33] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115–132.
- [34] Hanna N, Ohana P, Konikoff FM, et al. Phase 1/2a, dose-escalation, safety, pharmacokinetic and preliminary efficacy study of intratumoral administration of BC-819 in patients with unresectable pancreatic cancer [J]. *Cancer Gene Ther*, 2012, 19(6):374–381.
- [35] Ma J, Xue M. LINK-A lncRNA promotes migration and invasion of ovarian carcinoma cells by activating TGF-beta pathway [J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(5):BSR20180936.
- [36] Sang XB, Sun KX, Wang LL, et al. Effects and mechanism of RhoC downregulation in suppressing ovarian cancer stem cell proliferation, drug resistance, invasion and metastasis [J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(6):3267–3274.
- [37] Lim W, Song G. Inhibitory effects of delphinidin on the proliferation of ovarian cancer cells via PI3K/Akt and ERK1/2 MAPK signal transduction [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(1):810–818.
- [38] Jin Y, Feng SJ, Qiu S, et al. LncRNA MALAT1 promotes proliferation and metastasis in epithelial ovarian cancer via the PI3K-Akt pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(14):3176–3184.
- [39] Guo L, Peng Y, Meng Y, et al. Expression profiles analysis reveals an integrated miRNA-lncRNA signature to predict survival in ovarian cancer patients with wild-type BRCA1/2 [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(40):68483–68492.
- [40] Yang K, Hou Y, Li A, et al. Identification of a six-lncRNA signature associated with recurrence of ovarian cancer [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):752.
- [41] Li YW, Wang YM, Zhang XY, et al. Research progress of long non-coding RNA HOTAIR in malignant tumors [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2015, 42 (3):228–235. [李雨薇, 王裕民, 张雪莹, 等. 长链非编码 RNA HOTAIR 在恶性肿瘤中的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2015, 42(3):228–235.]
- [42] Wang L, Hu Y, Xiang X, et al. Identification of long non-coding RNA signature for paclitaxel-resistant patients with advanced ovarian cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (38):64191–64202.
- [43] Liu E, Liu Z, Zhou Y. Carboplatin-docetaxel-induced activity against ovarian cancer is dependent on up-regulated lncRNA PVT1 [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(4):3803–3810.
- [44] Fang L, Wang H, Li P. Systematic analysis reveals a lncRNA-mRNA co-expression network associated with platinum resistance in high-grade serous ovarian cancer [J]. *Invest New Drugs*, 2018, 36(2):187–194.
- [45] Castanotto D, Rossi JJ. The promises and pitfalls of RNA-interference-based therapeutics [J]. *Nature*, 2009, 457(7228):426–433.
- [46] Hardin H, Helein H, Meyer K, et al. Thyroid cancer stem-like cell exosomes: regulation of EMT via transfer of lncRNAs [J]. *Lab Invest*, 2018, 98(9):1133–1142.
- [47] Sang LJ, Ju HQ, Liu GP, et al. LncRNA CamK-A regulates Ca(2+)-signaling-mediated tumor microenvironment remodeling [J]. *Mol Cell*, 2018, 72(1):71–83.