

长链非编码 RNA 在肿瘤细胞自噬中的调控作用

白茹梦,卓帅帅,孙苗苗,张智弘
(南京医科大学第一附属医院,江苏 南京 210029)

摘要: lncRNA 是一类长度大于 200nt,并且没有蛋白编码功能的 RNA。研究发现 lncRNA 在肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移、物质代谢和血管形成等方面发挥重要作用。自噬是细胞的“自食”现象,是哺乳动物发育、细胞生理和免疫反应的关键,然而高水平自噬也会在一定程度上引起细胞凋亡。研究表明 lncRNA 是细胞自噬的新型调控因素,可以在多种机制上调节自噬的进程,进而影响肿瘤的发生、发展。全文论述 lncRNAs 在肿瘤细胞中调控自噬水平及其机制。

关键词: lncRNA; 自噬; 肿瘤

中图分类号: R730 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2020)05-0373-06
doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2020.05.A009

Regulation of Long Non-Coding RNA in Tumor Cell Autophagy

BAI Ru-meng, ZHUO Shuai-shuai, SUN Miao-miao, ZHANG Zhi-hong
(The First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

Abstract: lncRNA is a kind of RNA with length larger than 200nt which has no function of protein coding. Studies have proved that lncRNAs plays a pivotal role in tumor cell proliferation, invasion, migration, metabolism and angiogenesis. Autophagy is a phenomenon of “self-feeding” in cells, which exerts extraordinary functions on mammalian development, cell physiology and immune response. However, high levels of autophagy can also cause cell death to some extent. Studies have shown that lncRNAs is a new factor that can regulate the process of autophagy in a variety of mechanisms, which in turn induces the occurrence and development of tumor. This article reviews the regulation of autophagy in lncRNAs in tumor cells and its mechanism.

Key words: lncRNA; autophagy; tumor

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) 是一类长度大于 200nt, 且没有蛋白编码功能的 RNA。研究发现 lncRNA 在肿瘤中发挥着重要的原癌基因或抑癌基因的作用, 并且可以促进肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移等恶性生物学行为。自噬是细胞的“自食”现象, 在进化中高度保守。自噬是哺乳动物发育、细胞生理和免疫反应的关键, 然而, 高水平自噬也会在一定程度上引起细胞凋亡。研究表明 lncRNA 是细胞自噬的新型调控因素, 可以在多种机制上调节自噬的进程, 进而影响肿瘤的发生、发展。

收稿日期: 2019-10-09; 修回日期: 2019-12-26

基金项目: 国家自然科学基金(81773109)

通信作者: 张智弘, E-mail: zhangzhih2001@aliyun.com

本文就 lncRNA 在肿瘤细胞中调控自噬水平及其机制作一综述。

1 lncRNA 的功能

转录组学研究发现, 在人类基因组转录产生的 RNA 中, 用于编码蛋白质的不到 2%, 近 98% 的 RNA 不编码蛋白质, 被称为非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA), 而有超过 68% 的基因被分类为 lncRNA^[1-2]。lncRNA 是一类长度超过 200nt 的 RNA 组, 过去 lncRNA 被认为是无功能的, 但是近年来研究表明, 异常表达的 lncRNA 与肿瘤的发生、发展密切相关^[3]。

LncRNA 可以在转录水平、转录后水平和翻译水平上调节基因的表达,并且参与表观遗传学调控,X 染色体失活、剪接、印记、染色质重塑、RNA 稳定、大分子易位和蛋白质活性调节等多种生物学过程^[2-4]。此外,lncRNA 也被认为是肿瘤诊断和预后的标志物,以及肿瘤治疗的重要靶标^[1]。LncRNA 的特征在于其强大的组织特异性,并且其表达水平和功能可能在不同细胞类型之间变化很大^[1]。LncRNA 在细胞中的具体作用机制可分为四大类:信号、诱饵、引导和框架。信号 lncRNA 可以结合转录因子,其以组织特异性方式影响下游信号传导;诱饵 lncRNA 可以抑制转录过程;引导 lncRNA 与核糖核蛋白复合物和染色质修饰物结合,从而诱导基因表达的变化;框架 lncRNA 可通过与多个受体相互作用,从而导致转录抑制或激活^[5]。LncRNA 调节细胞生物学活动取决于其细胞定位:细胞核 lncRNA 富含涉及染色质相互作用、转录调控和 RNA 加工的功能,而细胞质 lncRNA 可调节 mRNA 稳定性及翻译并影响细胞信号级联^[6]。

2 细胞自噬的作用

自噬是真核细胞在进化过程中高度保守的调节机制,是几乎所有细胞从酵母到哺乳动物的重要降解途径^[7]。自噬是哺乳动物发育、细胞生理和免疫反应的关键,然而,高水平自噬也会在一定程度上引起细胞的死亡^[4]。在应激状态下如营养缺乏、DNA 损伤、感染或缺氧等过程中,自噬水平增加以增强细胞适应能力,有利于细胞生存^[4]。一般认为,在早期肿瘤发生中,自噬通过防止受损细胞的毒性物质积累而在肿瘤进展中起保护作用,而在后期阶段,自噬可以通过满足癌症对营养素的高需求来促进代谢使肿瘤细胞存活^[4]。自噬过程大致可分为起始、成核、伸长、自噬体膜的形成与闭合、与溶酶体的融合和大分子前体的再循环等步骤^[8]。超过 30 种自噬相关基因 (autophagy-related gene, ATG) 在自噬过程中发挥作用,其中两个泛素样蛋白系统最重要:ATG12 结合过程和 LC3 修饰过程,前者指 ATG12 在 E1 样酶 ATG7 的辅助下与 ATG5 缀合形成 ATG5-ATG12 复合物;后者指 LC3- I 在 ATG5-ATG12-ATG16 复合物的帮助下与磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamines,

PE) 结合转化成 LC3- II,促进自噬体形成,从胞质型 LC3 (LC3- I) 到转化成膜型 LC3 (LC3- II)^[8-10]。自噬在肿瘤发展的不同阶段起着双重作用。Yang 等^[2,11]研究发现自噬一方面是一种保护性过程,在恶劣的微环境中通过分解代谢过程保护癌细胞免于死亡,例如保护细胞免受氧化应激和有害的基因组突变;另外,自噬也可通过破坏细胞必需成分诱导癌细胞凋亡和死亡,自噬的活化可以引起肿瘤的发生,抑制自噬可以诱导细胞凋亡并消除自噬的促存活效应。

3 LncRNA 在肿瘤细胞自噬中的调节作用及其机制

研究表明 lncRNA 是细胞自噬调控的新型调节因子,Zhao 等^[12]研究发现 lncRNA MEG3 在胶质瘤组织和细胞系中表达显著下调,并且其过表达可显著抑制细胞增殖,同时促进胶质瘤细胞的凋亡和自噬。Yu 等^[10]研究显示 lncRNA LCPAT1 和 LC3- II 的表达在肺癌中呈正相关,敲低 LCPAT1 导致自噬相关基因表达减少,从而抑制肿瘤生长及体内细胞自噬。Wang 等^[13]研究发现沉默 lncRNA HOTAIR 可以减少自噬体的形成,并且减少 LC3- II、ATG3 和 ATG7 的表达,增加了 mTOR 的表达,显示 HOTAIR 可以促进口腔鳞状细胞癌的自噬。

LncRNA 调节自噬的具体机制可以分为三类:lncRNA 充当竞争性内源 RNA (ceRNA) 结合 miRNA 以调节 miRNA 表达,从而影响自噬进程^[14];lncRNA 也可以顺式或反式影响 ATG 基因的表达^[4];lncRNA 通过 AKT/mTOR 途径抑制自噬介导的细胞凋亡来促进肿瘤进展^[1]。

3.1 LncRNA 直接影响自噬相关基因的表达来调节自噬

自噬相关基因 (ATG) 是一组在自噬中起作用的基因,并且从酵母到人类是高度保守的^[9]。在功能上,哺乳动物 ATG 可以分为六个功能簇:① ULK1-ATG13-FIP200-ATG101 蛋白激酶复合物;② 含有核心蛋白 VPS34、VPS15 和 Beclin 1 的 PtdIns3K III 类复合物;③ PtdIns3P 绑定的 WIPI/ATG18-ATG2 复合体;④ 跨膜蛋白 ATG9A;⑤ 泛素样 ATG5/ATG12 系统;⑥ ATG8/LC3 缀合系统。ATG 在自噬体生物发生过程中调节不同的步骤,即囊泡成核、自噬体膜的伸

长和自噬体完成^[15]。LncRNA 可以顺式或反式作用于 ATG 来调节其表达进而调控自噬^[8]。

ATG7 是一种类似 E1 的激活酶,参与自噬所需的两种泛素样蛋白系统,ATG7 及其介导的自噬水平在人膀胱癌细胞系中显著升高^[16]。定位于染色体 6p22 的 lncRNA 神经母细胞瘤相关转录物 1 (NBAT1)是一种肿瘤抑制性 lncRNA。Zheng 等^[2]研究表明 NBAT1 表达可以抑制细胞自噬,通常情况下 PSMD10 蛋白可以进入细胞核并与 HS-F1 共同结合于 ATG7 启动子,从而激活 ATG7 转录,而过表达 NBAT1 可以通过募集遍在蛋白 E3 连接酶或泛素酶以增加 PSMD10 泛素化水平,然后诱导 PSMD10 降解,下调 PSMD10 蛋白水平,降低 PSMD10 和 HSF1 对 ATG7 启动子的占据,诱导 ATG7 的转录抑制, NBAT1 下调也与非小细胞癌 (NSCLC)患者预后不良显著相关 (Figure 1)。Chen 等^[8]研究结果显示 ATG7 与 HULC 共转染可以部分逆转 HULC 在体外和体内肿瘤发生中的功能,表明 HULC 可与 ATG7 结合并抑制 ATG7 途径。

ATG5 是一种关键的自噬促进基因,在细胞行为的调节中起着至关重要的作用。Qin 等^[9]研究发现,在甲状腺乳头状癌细胞系中,lncRNA GAS8-AS1 的表达减少,且 GAS8-AS1 过表达可以在 mRNA 和

蛋白水平上调 ATG5,并诱导细胞死亡和自噬激活,ATG5 表达的下调可以逆转由 GAS8-AS1 引起的自噬和细胞死亡,揭示了甲状腺乳头状癌细胞系中 GAS8-AS1/ATG5 轴的新机制。

ATG3 作为 E2 样酶,负责吞噬泡的形成及延伸,并参与自噬调节^[12]。Meg3(lncRNA 基因母系表达 3)位于染色体 14q32,Xiu 等^[7]研究发现卵巢原发性肿瘤组织中 Meg3 的表达显著降低,过表达 Meg3 导致 LC3、LAMP1 和 ATG3 的表达升高,以及 p62 的降低。研究表明 lncRNA Meg3 可能与 ATG3 相互作用形成复合物并促进其表达,Meg3 诱导的自噬依赖于 ATG3 的存在^[7]。

3.2 LncRNA 充当 ceRNA 调节 microRNA 下游 ATG 调节细胞自噬

微小 RNA(miRNA)是长度约为 2025 个核苷酸的内源性 RNA(ceRNA),在肿瘤中发挥着致癌基因或肿瘤抑制因子的作用^[17-19]。众所周知,miRNA 可以在转录后水平上调节基因表达,其中一些 lncRNA 上含有 miRNA 结合位点,可以通过与 mRNA 竞争结合 miRNA 发挥作用,这种竞争性内源性 RNA 影响 miRNA 的分布和随后的靶基因表达,可阻止 miRNA 与 ATG 的结合,从而在细胞自噬中发挥调节作用^[17](Figure 2)。

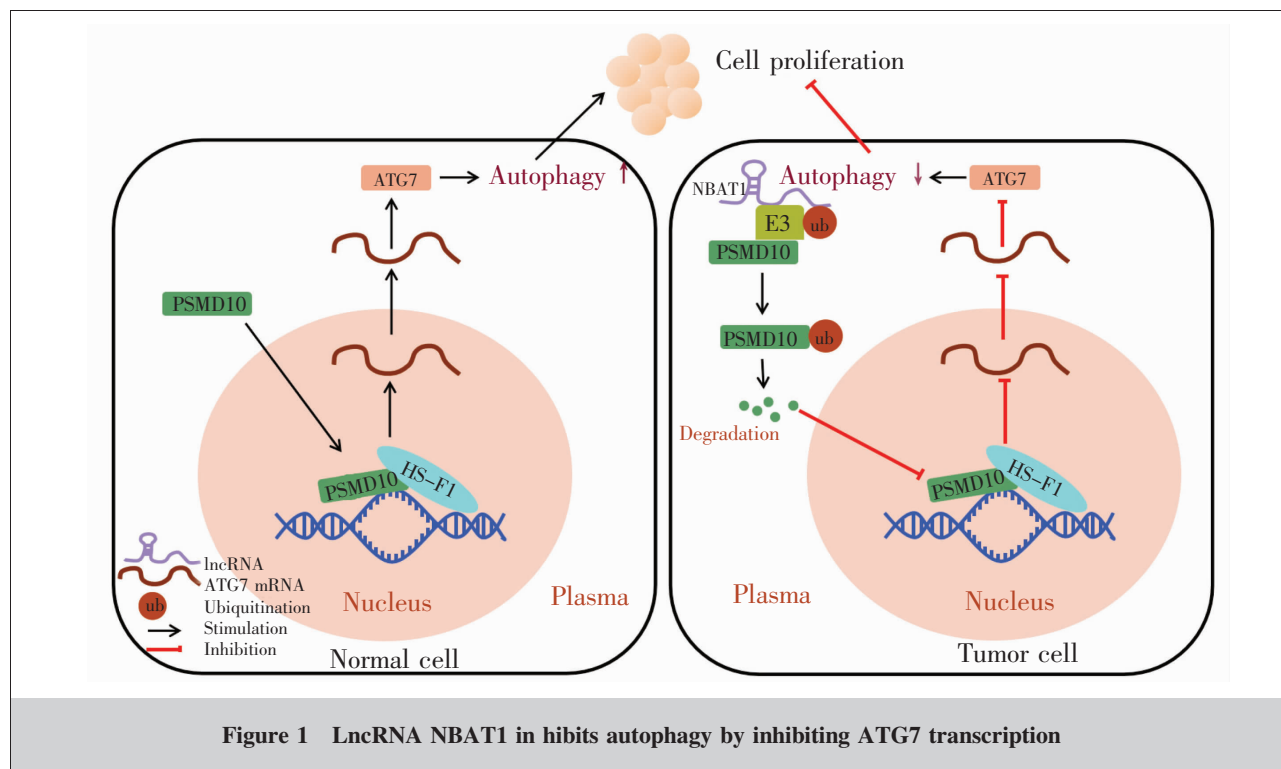


Figure 1 LncRNA NBAT1 inhibits autophagy by inhibiting ATG7 transcription

Wu 等^[16]研究发现 lncRNA UCA1 在膀胱癌中过表达,并且可以促进膀胱癌细胞的增殖,UCA1 可以通过直接作用抑制 miR-582-5p 的表达来上调 ATG7 表达,该作用是通过 ATG7 基因的 3'-UTR 中包含的 miR-582-5p 共有序列介导的,从而促进细胞自噬,这种新的 UCA/miR-582-5p/ATG7 轴为膀胱癌的诊断和治疗提供了新的思路。

Li 等^[14]研究发现 lncRNA GAS5 可能在转录后水平上调 miR-23a 的表达,GAS5 的下调足以通过增加 miR-23a 的表达抑制 ATG3,敲除 GAS5 也可以降低 LC3-II 和 ATG5-ATG12 复合物的水平,表明下调 GAS5 可通过调节 miR-23a 得表达来减弱细胞活力,并通过 ATG3 依赖性方式抑制自噬,GAS5/miR-23a/ATG3 轴可能是一个新的调控网络。Gu 等^[20]也发现,与邻近正常组织相比,GAS5 在乳腺癌组织中的表达明显下调,且 GAS5/miR-23a/ATG3 轴显著调节乳腺癌中的自噬水平。

Gu 等^[21]研究发现 lncRNA DICER1-AS1 在骨肉瘤细胞中表达上调,DICER1-AS1 敲低可以抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,并降低 ATG5、LC3 和 Beclin 1 的蛋白表达水平,表明 DICER1-AS1 敲低对骨肉瘤细胞自噬的抑制作用,进一步研究发现 miR-30b 是 DICER1-AS1 下游分子,可以与 DICER1-AS1 的 3'-UTR 结合,而 miR-30b 也靶向 ATG5mR-

NA3'-UTR,DICER1-AS1/miR-30b/ATG5 途径为骨肉瘤提供了新的见解和治疗靶点。

LncRNA SNHG15 位于染色体 7p13 上,但不编码蛋白质。Liu 等^[18]研究发现 SNHG15 在骨肉瘤组织和细胞中上调,起着原癌基因作用。SNHG15 含有一个保守的 miR-141 位点,可以通过与 miR-141 的相互作用调节 ATG5 的表达,从而促进骨肉瘤细胞的自噬。

LncRNA MALAT1 定位于染色体 11q13,参与多种生物和细胞过程,包括糖酵解、肿瘤发生、视网膜神经变性和血管形成等,敲低 MALAT1 可以通过阻断化疗诱导的自噬增加胃癌细胞对化疗的敏感性。在机制上,MALAT1 竞争性结合 miR-23b-3p 对 ATG12 的抑制作用,从而增加 ATG12 的表达,促进自噬相关化学抗性,这项研究对化学抗性潜在的分子机制提出了新的见解^[22]。

3.3 LncRNA 通过 AKT/mTOR 信号通路调节自噬

AKT 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶(也称为蛋白激酶 B),在多种细胞生物学过程中起着关键作用,如增殖、自噬、代谢和存活等^[23]。研究表明在多种细胞类型中,AKT 已成为主要的 PI3K 效应物,通过 PI3K/AKT 途径发挥其致癌作用,PI3K 的活化导致 AKT 上两个关键残基磷酸化,磷酸化的 AKT 从细胞质转移到细胞核,使 AKT 被激活从而发挥作用^[24]。

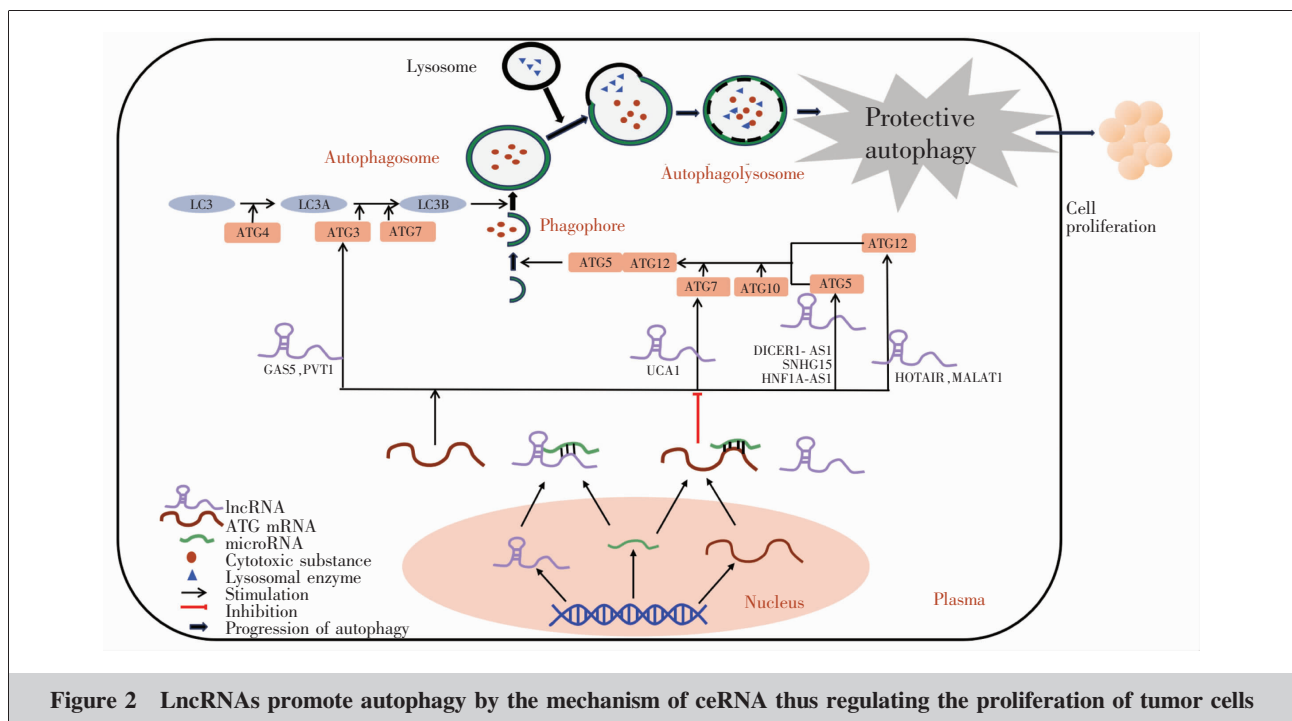


Figure 2 LncRNAs promote autophagy by the mechanism of ceRNA thus regulating the proliferation of tumor cells

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路整合细胞内和细胞外信号,并作为细胞代谢、生长、增殖和存活的中枢调节剂,mTOR途径的激活在细胞增殖和细胞周期进程中均有重要的调节作用^[6]。AKT/mTOR信号通路是调节自噬的主要途径,可以决定细胞的存活或死亡,并在肿瘤发生中起重要作用^[1,25]。ULK1(Unc-51 like autophagy activating kinase 1,Unc-51样激酶1)是引发自噬起始的关键分子,作为mTOR分子的下游,mTORC1(mTOR的活化状态)使ULK1磷酸化而失活,从而起到抑制自噬的作用(Figure 3)^[17]。

Yang等^[1]研究发现与正常口腔上皮细胞相比,lncRNA CASC9在OSCC组织和细胞系中表达显著上调,且高表达的CASC9与肿瘤大小、分期、区域淋巴结转移和总生存期密切相关,在体外实验中敲低CASC9后p-AKT、p-mTOR、p62和BCL-2的表达水平显著降低,而LC3B II/LC3B I比例的明显增加,AKT激活剂可以逆转沉默CASC9引起的高水平自噬和细胞凋亡,表明CASC9通过AKT/mTOR途径抑制自噬介导的细胞凋亡来促进OSCC进展,CASC9可能被用作OSCC诊断和预后的有价值的生物标志物。

Xin等^[26]研究结果表明lncRNA HULC与人肝癌组织中的PTEN表达呈负相关,并且HULC可以通过p62介导的泛素-蛋白酶体系统抑制PTEN,抑制自噬会增加PTEN的表达。而调节蛋白PTEN可以促进AKT信号传导的活化^[23],表明HULC通过

肝癌细胞中的PTEN还原激活PI3K/AKT/mTOR途径。

4 小结与展望

自噬在肿瘤中的具体调节作用尚存在争议,并且在不同的肿瘤细胞,以及肿瘤发展的不同阶段中,自噬的水平及其对细胞的作用也不尽相同。lncRNA在自噬调节中的作用机制是多方面的,多种不同的通路之间相互作用、相互联系,形成网络,共同调控肿瘤细胞的生长和死亡。目前,lncRNA对于自噬的调控是研究热点,lncRNA可以充当竞争性内源RNA,结合miRNA调节miRNA的表达,从而调节自噬相关基因的表达来影响自噬进程,也可以直接影响顺式或反式ATG基因的表达,或者通过AKT/mTOR途径抑制自噬介导的细胞凋亡来促进肿瘤进展等。关于lncRNA在肿瘤中自噬的机制研究有待进一步探索。

参考文献:

- [1] Yang Y,Chen D,Liu H,et al. Increased expression of lncRNA CASC9 promotes tumor progression by suppressing autophagy-mediated cell apoptosis via the AKT/mTOR pathway in oral squamous cell carcinoma [J]. Cell Death Dis,2019,10(2):41.
- [2] Zheng T,Li D,He Z,et al. Long noncoding RNA NBAT1 inhibits autophagy via suppression of ATG7 in non-small cell

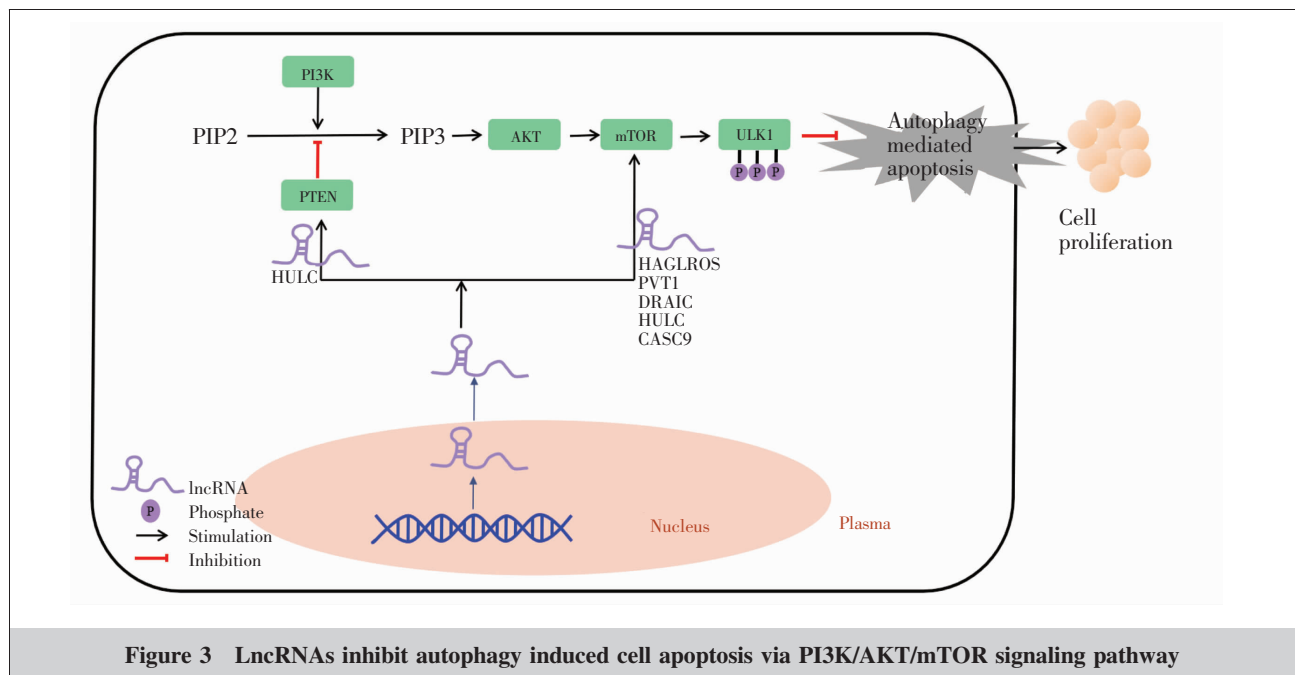


Figure 3 LncRNAs inhibit autophagy induced cell apoptosis via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway

- lung cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(9):1801–1811.
- [3] Liu ML, Zhang Q, Yuan X, et al. Long noncoding RNA RP4 functions as a competing endogenous RNA through miR-7-5p sponge activity in colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(9):1004–1012.
- [4] Tiessen I, Abildgaard MH, Lubas M, et al. A high-throughput screen identifies the long non-coding RNA DRAIC as a regulator of autophagy[J]. *Oncogene*, 2019, 38(26):5127–5141.
- [5] Barangi S, Hayes AW, Reiter R, et al. The therapeutic role of long non-coding RNAs in human diseases: A focus on the recent insights into autophagy [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 142:22–29.
- [6] Chen JF, Wu P, Xia R, et al. STAT3-induced lncRNA HAGLROS overexpression contributes to the malignant progression of gastric cancer cells via mTOR signal-mediated inhibition of autophagy[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):6.
- [7] Xiu YL, Sun KX, Chen X, et al. Upregulation of the lncRNA Meg3 induces autophagy to inhibit tumorigenesis and progression of epithelial ovarian carcinoma by regulating activity of ATG3[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19):31714–31725.
- [8] Chen S, Wu DD, Sang XB, et al. The lncRNA HULC functions as an oncogene by targeting ATG7 and ITGB1 in epithelial ovarian carcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10):e3118.
- [9] Qin Y, Sun W, Zhang H, et al. LncRNA GAS8-AS1 inhibits cell proliferation through ATG5-mediated autophagy in papillary thyroid cancer[J]. *Endocrine*, 2018, 59(3):555–564.
- [10] Yu X, Ye X, Lin H, et al. Knockdown of long non-coding RNA LCPAT1 inhibits autophagy in lung cancer[J]. *Cancer Biol Med*, 2018, 15(3):228–237.
- [11] Yang L, Peng XQ, Jin HY, et al. Long non-coding RNA PVT1 promotes autophagy as ceRNA to target ATG3 by sponging microRNA-365 in hepatocellular carcinoma[J]. *Gene*, 2019, 697:94–102.
- [12] Zhao H, Wang X, Feng X, et al. Long non-coding RNA MEG3 regulates proliferation, apoptosis, and autophagy and is associated with prognosis in glioma [J]. *J Neurooncol*, 2018, 140(2):281–288.
- [13] Wang X, Liu W, Wang P, et al. RNA interference of long noncoding RNA HOTAIR suppresses autophagy and promotes apoptosis and sensitivity to cisplatin in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2018, 47(10):930–937.
- [14] Li L, Huang C, He Y, et al. Knockdown of long non-coding RNA GAS5 increases miR-23a by targeting ATG3 involved in autophagy and cell viability [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(4):1723–1734.
- [15] Wesselborg S, Stork B. Autophagy signal transduction by ATG proteins: from hierarchies to networks [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(24):4721–4757.
- [16] Wu J, Li W, Ning J, et al. Long noncoding RNA UCA1 targets miR-582-5p and contributes to the progression and drug resistance of bladder cancer cells through ATG7-mediated autophagy inhibition[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12:495–508.
- [17] Huang FT, Chen WY, Peng JF, et al. LncRNA PVT1 triggers cyto-protective autophagy and promotes pancreatic ductal adenocarcinoma development via the miR-20a-5p/ULK1 Axis[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):98.
- [18] Liu K, Hou Y, Liu Y, et al. LncRNA SNHG15 contributes to proliferation, invasion and autophagy in osteosarcoma cells by sponging miR-141[J]. *J Biomed Sci*, 2017, 24(1):46.
- [19] Bao X, Ren T, Huang Y, et al. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR increases miR-454-3p by targeting Stat3 and Atg12 to inhibit chondrosarcoma growth[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(2):e2605.
- [20] Gu J, Wang Y, Wang X, et al. Effect of the LncRNA GAS5-MiR-23a-ATG3 axis in regulating autophagy in patients with breast cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(1):194–207.
- [21] Gu Z, Hou Z, Zheng L, et al. LncRNA DICER1-AS1 promotes the proliferation, invasion and autophagy of osteosarcoma cells via miR-30b/ATG5 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104:110–118.
- [22] Hu YR, Yu YC, You SW, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates autophagy associated chemoresistance via miR-23b-3p sequestration in gastric cancer [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1):174.
- [23] Liu C, Zhang Y, She X, et al. A cytoplasmic long noncoding RNA LINC00470 as a new AKT activator to mediate glioblastoma cell autophagy[J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1):77.
- [24] Manning BD, Toker A. AKT/PKB signaling: navigating the network[J]. *Cell*, 2017, 169(3):381–405.
- [25] Wang RC, Wei Y, An Z, et al. Akt-mediated regulation of autophagy and tumorigenesis through Beclin 1 phosphorylation[J]. *Science*, 2012, 338(6109):956–959.
- [26] Xin X, Wu M, Meng Q, et al. Long noncoding RNA HULC accelerates liver cancer by inhibiting PTEN via autophagy cooperation to miR15a[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):94.