

肿瘤中烟酰胺核苷酸反义转氢酶 RNA1 的作用研究

李响, 胡增涛, 徐书婉, 夏浩明, 姜兴明
(哈尔滨医科大学附属第二医院, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 烟酰胺核苷酸反义转氢酶 RNA1 (nicotinamide nucleotide transhydrogenase-antisense RNA1, NNT-AS1) 作为一种新近发现的在肿瘤中异常表达的长链非编码 RNA, 其在肿瘤中作用的相关研究也获得了突破性进展。现有研究已证实 NNT-AS1 广泛参与多种肿瘤的发生和发展, 其对肿瘤的诊治都有重要意义。全文将对 NNT-AS1 与肿瘤的研究进展作一综述。

关键词: 长链非编码 RNA; NNT-AS1; 肿瘤; 调控机制

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2019)07-0650-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.07.B013

Research Progress of Nicotinamide Nucleotide Transhydrogenase-antisense RNA1 in Tumors

LI Xiang, HU Zeng-tao, XU Shu-wan, XIA Hao-ming, JIANG Xing-ming

(The 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

Abstract: Nicotinamide nucleotide transhydrogenase-antisense RNA1 (NNT-AS1) is a novel lncRNA found recently and its expression is dysregulated in tumors. The role of NNT-AS1 in cancer research also obtained the breakthrough. Recent studies have confirmed that NNT-AS1 widely participates in the development and progression of various tumors. This article reviews the research progress on the relationship between NNT-AS1 and tumors and its application in the cancer diagnosis and treatment.

Subject words: long non-coding RNA; NNT-AS1; tumor; regulatory mechanism

肿瘤是当今威胁人类健康的主要疾病之一, 全球每年死于肿瘤的人数约有 800 万^[1]。中国国家统计局数据显示, 自 2010 年以来每年因肿瘤而死亡的人数已远超心脑血管疾病, 肿瘤已成为中国人群第一大死因。随着全基因组和转录组测序技术的发展, 既往被认为是转录过程中“噪音”的长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 受到越来越多的关注^[2]。lncRNA 是一类长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA, 既往认为其缺乏开放阅读框而不具备编码蛋白质的能力^[3]。随着研究的进展, 人们发现 lncRNA 可以在表观遗传学、转录及转录后等多个水平来调控细胞的增殖、分化和周期等。

基金项目: 国家自然科学基金 (81602088); 中国博士后科学基金 (2017M621305); 黑龙江省博士后科学基金 (LBH-Z16096); 黑龙江省卫生计生委科研课题 (2016-049); 哈尔滨医科大学创新科学研究基金 (2016LCX09)

通信作者: 姜兴明, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 博士; 哈尔滨医科大学附属第二医院, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路 194 号 (150086); E-mail: xmjiang@hrbmu.edu.cn

收稿日期: 2018-12-02; **修回日期:** 2019-02-10

烟酰胺核苷酸反义转氢酶 RNA1 (nicotinamide nucleotide transhydrogenase-antisense RNA1, NNT-AS1) 作为一个新近发现的 lncRNA, 现已证实其能通过调控多种信号分子和细胞通路来影响肿瘤的增殖、分化和转移。NNT-AS1 是一个最早被发现于结直肠癌中的全新 lncRNA 分子, 定位于 5 号染色体的 43573185-43603230 区, 包含三个外显子。研究发现, NNT-AS1 在消化系统肿瘤、肺癌、宫颈癌等多种肿瘤中表达升高, 而在卵巢癌中表达降低。NNT-AS1 独特的生物学功能使其有望在未来的肿瘤治疗领域崭露头角。

1 NNT-AS1 与肿瘤

1.1 NNT-AS1 与消化系统肿瘤

结肠癌、胃癌和肝癌都是常见的消化系统肿瘤, 其起病隐匿, 进展迅速, 极易发生远处转移, 预后不

良^[4-6]。在实验研究中通过实时荧光定量 PCR (quantitative Real-time PCR, qRT-PCR) 检测分析发现, NNT-AS1 在结肠癌、胃癌和肝癌组织和细胞中的表达含量均明显升高^[7-10]。利用 si-RNA 转染三种肿瘤细胞, 利用 si-RNA 干扰 NNT-AS1 的表达后, 肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移能力被显著性抑制; 并且细胞周期也受到明显影响, 多数肿瘤的细胞周期停留在 G0/G1 期。在后期的异种移植实验中, 外源性沉默 NNT-AS1 使得裸鼠体内肿瘤的生长和转移被明显抑制。这一发现说明了 NNT-AS1 的特异性低表达可以抑制肿瘤细胞的增殖、转移和侵袭能力, 并且延长细胞周期。临床数据分析发现, NNT-AS1 是肿瘤患者总体生存期和无进展生存期的一个独立影响因素, NNT-AS1 表达水平与肿瘤分化程度、TNM 分期、血管侵袭和淋巴转移密切相关, 而与患者年龄、性别和神经侵犯无关。研究表明, NNT-AS1 表达水平可作为一些消化系统肿瘤, 如结直肠癌、胃癌和肝癌的独立预后指标, NNT-AS1 有望成为新的肿瘤生物学诊断标志物。

1.2 NNT-AS1 与女性生殖系统肿瘤

乳腺癌、宫颈癌和卵巢癌都具有较高复发率和侵袭性^[11-13]。许多研究均证实, NNT-AS1 在多数女性生殖系统肿瘤中特异性表达, 对肿瘤的发生发展起到一定的调控作用。NNT-AS1 在乳腺癌和宫颈癌组织内表达升高, 外源性沉默 NNT-AS1 可抑制肿瘤细胞的增殖、转移和上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程。此外, 细胞周期停滞在 G0/G1 期和凋亡细胞比率大幅上升。Huang 等发现在卵巢癌组织中, NNT-AS1 表达水平降低, 利用 si-RNA 干扰 NNT-AS1 的表达后, 肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移能力升高, 细胞凋亡比率下降; 提示 NNT-AS1 在卵巢癌中可能扮演抑癌分子的作用^[14]。

1.3 NNT-AS1 与其他肿瘤

非小细胞肺癌极易复发^[15-16]。NNT-AS1 在非小细胞肺癌组织中含量明显升高, 抑制 NNT-AS1 的表达后, 肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移能力受到显著性抑制。NNT-AS1 在非小细胞肺癌中扮演了促癌因子的作用。骨肉瘤好发于青少年和儿童, 其发病率高、进展快且容易出现远处转移。传统的治疗方案以外科截肢和辅助化疗为主, 但术后患者的预后仍然不容乐观^[17-18]。在对骨肉瘤研究中发现, NNT-AS1 在骨

肉瘤组织中的表达显著性升高, 外源性沉默 NNT-AS1 后, 肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移能力明显下降, 细胞周期处于 S 期的细胞比率明显减少, 并且细胞凋亡比率也有显著性提升。NNT-AS1 在骨肉瘤组织中特异性的高表达与骨肉瘤的恶性程度相关, 并且是骨肉瘤患者总体生存期和无进展生存期的独立影响因素^[19]。NNT-AS1 在骨肉瘤中同样扮演了促癌因子的作用, 调控肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移。

2 NNT-AS1 在肿瘤中的作用机制

波形蛋白 (Vimentin) 和 E-钙黏素蛋白 (E-cadherin) 是调节细胞 EMT 过程中至关重要的几种蛋白。MAPK/Erk 信号通路是细胞肿瘤化的一个重要信号通路。在结直肠癌中, NNT-AS1 表达增加, 同时 Ras 表达水平和波形蛋白含量明显升高并且细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, Erk1/2) 的活化程度也随之升高, 而 E-cadherin 蛋白表达水平下降。NNT-AS1 通过活化 MAPK/Erk 信号通路来促进结直肠肿瘤的发生。NNT-AS1 在肝癌组织和细胞中表达升高, 而 miR-363 在肝癌组织和肿瘤细胞中表达降低, Lu 等研究发现, NNT-AS1 可以与 CDK6 竞争性结合 miR-363 并使 CDK6 表达升高, NNT-AS1 可以通过调控 miR-363/CDK6 轴来发挥其在肝癌组织中的促癌作用。在胃癌中, Wang 等也发现了相似的作用, 上调 miR-363 的表达后发现 NNT-AS1 含量下降。以上结果说明了 NNT-AS1 可以作为一种内源竞争性 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 来调控 miR-363, 进而促进肿瘤的增殖、侵袭和转移等作用。转录因子 E2F 家族是一类调控细胞周期并且能够促进细胞凋亡的蛋白。通过免疫荧光实验, Chen 等还发现 NNT-AS1 可以发挥其 ceRNA 的作用, 海绵吸附 miR-424, 而 miR-424 在细胞内又能与 E2F1 (E2F transcription factor 1) 相结合^[20]。Shuai 等还发现, 在胃癌细胞中沉默 NNT-AS1 后, Caspase3 和 Caspase9 蛋白表达升高^[21]。以上结果提示 NNT-AS1 调控细胞周期、抑制肿瘤细胞凋亡的促癌作用是通过调控 NNT-AS1/miR-424/E2F1 轴、抑制 Caspase3 和 Caspase9 蛋白的表达来实现的。在乳腺癌中, NNT-AS1 同样发挥了 ceRNA 的作用, 它能够通过海绵吸附作用结合 miR-142-

3p,使 miR-142-3p 含量下降。锌指 E 盒结合同源盒 1(zinc finger E-Box binding homeobox 1,ZEB1)是一个在肿瘤中扮演促癌因子作用的转录因子,Li 等通过亚细胞结构分离实验和荧光素酶报告基因实验验证了 NNT-AS1 可以作为 ceRNA 与 ZEB1 竞争性结合 miR-142-3p。换言之,NNT-AS1 通过调节 NNT-AS1/miR-142-3p/ZEB1 轴来促进肿瘤细胞的增殖、转移、侵袭作用和 EMT 进程,进而发挥其促癌因子的作用^[22]。Hua 等通过荧光素酶报告基因实验和蛋白印迹实验发现 NNT-AS1 能够调节 Wnt/ β -catenin 信号通路的活化程度;敲除 NNT-AS1 后,Wnt/ β -catenin 信号通路的活化程度受到抑制。在宫颈癌中,升高的 NNT-AS1 通过活化 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进 β -catenin、c-myc 和 cyclin D1 蛋白的表达,进而促进肿瘤的增殖、侵袭和转移,从而达到调控宫颈癌的作用^[23]。Shen 等对 43 例非小细胞肺癌患者的组织研究中也发现了 NNT-AS1 可以作为一种 ceRNA 通过海绵吸附作用降低细胞内 miR-129-5p 的水平。升高的 NNT-AS1 与 miR-129-5p 结合并且抑制其表达,进而促进非小细胞肺癌的发生发展^[24]。Cai 等^[25]在两种人肺腺癌细胞系和两种顺铂耐药肺腺癌细胞系的研究中发现,在肿瘤细胞内特异性高表达的 NNT-AS1 可以调控信号分子通路 MAPK/Slug 进而调控非小细胞肺癌对铂类化疗药物的敏感性。高表达的 NNT-AS1 通过活化 MAPK/Slug 信号通路来降低细胞凋亡比率,从而使肿瘤细胞耐铂类化疗药。NNT-AS1 在非小细胞肺癌中不仅发挥促进肿瘤细胞增殖、侵袭和转移的作用,同时也是导致肿瘤患者耐药的原因之一。在对骨肉瘤的研究中,Li 等^[26]发现,miR-320a 具有抑制骨肉瘤增殖,促进肿瘤细胞凋亡的作用,而肿瘤细胞中特异性高表达的 NNT-AS1 不仅升高 RUNX2、IGF-1R、c-Myc、Cyclin D1、MMP13、 β -catenin 和 Akt 磷酸化程度,同时抑制了 miR-320a 表达,进而发挥其促进骨肉瘤细胞增殖、转移和抑制细胞凋亡的作用。

3 结 语

随着对 lncRNA 研究的不断深入,NNT-AS1 在肿瘤中的作用也受到越来越多的重视。目前 NNT-AS1 显示出作为肿瘤调节因子的独特魅力,其在多

种肿瘤中呈现异常的高表达,能作为 ceRNA 调控多种细胞信号通路来影响肿瘤的发生发展,并且研究结果显示 NNT-AS1 有望成为新的肿瘤诊断标志物和治疗干预的靶点。但是有关调控 NNT-AS1 的上游分子机制尚不明确,NNT-AS1 的失调启动于肿瘤发生发展的哪一阶段? NNT-AS1 在卵巢癌中的抑癌作用具体机制? NNT-AS1 在其他肿瘤中是否还存在着类似于其在卵巢癌中的作用? 这些问题的答案对将来 NNT-AS1 能否应用于临床具有重要的意义,非常值得进一步深入研究,未来有关这些问题的回答将在更广的层面上揭示 NNT-AS1 在肿瘤中的作用及意义。

参考文献:

- [1] Torre LA,Bray F,Siegel RL,et al. Global cancer statistics,2012[J]. CA Cancer J Clin,2015,65(2):87-108.
- [2] Jiang XM,Wang ZD,Zhong XY,et al. Function and regulatory mechanism of long non-coding RNA CASC2 in cancers[J]. China Cancer,2018,27(6):448-253. [姜兴明,王志东,钟翔宇,等. 肿瘤易感候选基因 2 在肿瘤中的作用及机制研究[J]. 中国肿瘤,2018,27(6):448-453.]
- [3] Li JL,Li ZL,Zheng WY,et al. LncRNA-ATB:an indispensable cancer-related long noncoding RNA[J]. Cell Prolif,2017,50(6):1-7.
- [4] Pan XF,Fan NJ,Gao CF. Progress on long non-coding RNA in diagnosis and treatment of colorectal cancer[J]. Journal of Chinese Oncology,2017,23(2):111-115. [潘雪峰,范乃军,高春芳. LncRNA 与结直肠癌诊断治疗的研究进展[J]. 肿瘤学杂志,2017,23(2):111-115.]
- [5] Wang WM,Cai WL,Pan J,et al. Expression of ATDC in hepatic carcinoma and its clinical significance [J]. Journal of Chinese Oncology,2017,23(5):409-412. [汪伟民,蔡炜龙,潘杰,等. ATDC 在肝癌中表达及临床意义[J]. 肿瘤学杂志,2017,23(5):409-412.]
- [6] Reeves HL,Aisen AM. Hepatocellular carcinoma:optimal staging impacts survival[J]. Gastroenterology,2015,148(7):1274-1276.
- [7] Wang Q,Yang L,Feng SG,et al. Upregulated NNT-AS1,a long noncoding RNA,contributes to proliferation and migration of colorectal cancer cells in vitro and in vivo[J]. Oncotarget,2017,8(2):3441-3453.
- [8] Gu YH,Xiong F,Yan XP,et al. Expression and clinical significance of lncRNA NNT-AS1 in gastric carcinoma[J]. Shandong Medical Journal,2018,58(41):18-21. [顾有花,

- 熊峰,闫学平,等.胃癌组织中 LncRNA NNT-AS1 的表达及意义[J].山东医药,2018,58(41):18-21.]
- [9] Wang X,Ren MD,Li YR,et al. Long noncoding RNA NNT-AS1 promotes gastric cancer proliferation and invasion by regulating microRNA-363 expression[J]. J Cell Biochem,2018,[Epub ahead of print]
- [10] Lu YB,Jiang Q,Yang MY,et al. Long noncoding RNA NNT-AS1 promotes hepatocellular carcinoma progression and metastasis through miR-363/CDK6 axis [J]. Oncotarget,2017,8(51):88804-88814.
- [11] Lin Z,Wang Y,Ming H. Effect of Notch1 signaling pathway on regulating radiosensitivity of breast cancer cells and its mechanisms [J]. Journal of Chinese Oncology, 2018,24(7):687-691. [林争,王绎,明华. Notch1 信号通路调控乳腺癌肿瘤细胞放疗敏感性的机制研究 [J]. 肿瘤学杂志,2018,24(7):687-691.]
- [12] Yan SC,Jiao X,Zou HW,et al. Prognostic significance of c-Met in breast cancer:a meta-analysis of 6010 cases[J]. Diagn Pathol,2015,10:62.
- [13] Guan X,Diao HD. Expression and significance of EGFR and PKB in cervical cancer [J]. Journal of Chinese Oncology,2017,23(9):798-801. [关鑫,刁海丹. EGFR 和 PKB 在宫颈癌中的表达和意义[J]. 肿瘤学杂志,2017,23(9):798-801.]
- [14] Huang YQ,Shi JY,Xu Y. Long non-coding RNA NNT-AS1 contributes to cell proliferation,metastasis and apoptosis in human ovarian cancer[J]. Oncol Lett,2018,15(6):9264-9270.
- [15] Didkowska J,Wojciechowska U,Mańczuk M,et al. Lung cancer epidemiology:contemporary and future challenges worldwide[J]. Ann Transl Med,2016,4(8):150.
- [16] Wang RJ,Zheng YH,Xu Y,et al. Expression of miR-145 in non-small cell lung cancer and its clinicopathological significance[J]. Journal of Chinese Oncology,2018,24(5):424-428. [王瑞娟,郑艳华,许杨,等. miR-145 在非小细胞肺癌中的表达及临床病理意义[J]. 肿瘤学杂志,2018,24(5):424-428.]
- [17] Moore DD,Luu HH. Osteosarcoma [J]. Cancer Treat Res, 2014,162:65-92.
- [18] Garcia-Moure M,Martinez-Vélez N,Alonso MM,et al. Oncolytic adenoviruses as a therapeutic approach for osteosarcoma;a new hope[J]. J Bone Oncol,2016,9:41-47.
- [19] Ye H,Lin JK,Yao XD,et al. Overexpression of long non-coding RNA NNT-AS1 correlates with tumor progression and poor prognosis in osteosarcoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2018,45(5):1904-1914.
- [20] Chen BB,Zhao QF,Guan LL,et al. Long non-coding RNA NNT-AS1 sponges miR-424/E2F1 to promote the tumorigenesis and cell cycle progression of gastric cancer [J]. J Cell Mol Med,2018,22(10):4751-4759.
- [21] Shuai YF,Wang XJ,Zhang YZ. Effect of LncRNA NNT-AS1 on proliferation and apoptosis of gastric carcinoma cells and its mechanism [J]. Zhejiang Medical Journal, 2018,40(5):439-478. [帅勇锋,王小军,张一中. LncRNA NNT-AS1 对胃癌细胞增殖、凋亡作用机制研究[J]. 浙江医学,2018,40(5):439-478.]
- [22] Li Y,Lv M,Song ZY,et al. Long non-coding RNA NNT-AS1 affects progression of breast cancer through miR-142-3p/ZEB1 axis[J]. Biomed Pharmacother,2018,103:939-946.
- [23] Hua FF,Liu SS,Zhu LH,et al. Highly expressed long non-coding RNA NNT-AS1 promotes cell proliferation and invasion through Wnt/ β -catenin signaling pathway in cervical cancer[J]. Biomed Pharmacother,2017,92:1128-1134.
- [24] Shen Q,Jiang YJ. LncRNA NNT-AS1 promotes the proliferation,and invasion of lung cancer cells via regulating miR-129-5p expression[J]. Biomed Pharmacother,2017, 105:176-181.
- [25] Cai Y,Dong ZY,Wang JY. LncRNA NNT-AS1 is a major mediator of cisplatin chemoresistance in non-small cell lung cancer through MAPK/Slug pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2018,22(15):4879-4887.
- [26] Li CH,Zhang SY,Qiu TG,et al. Upregulation of long non-coding RNA NNT-AS1 promotes osteosarcoma progression by inhibiting the tumor suppressive miR-320a [J]. Cancer Biol Ther,2018. [Epub ahead of print]