

真核生物 3'UTR 的转录后水平调控及其与肿瘤的关系

康南 王宇 王颖 毛伊雯 燕太强 沈丹华

摘要 真核生物 3'非翻译区(3'untranslated regions, 3'UTR)在转录后水平调控中起到重要作用,它参与调控 mRNA 的体内稳定性及降解速率,控制 mRNA 的利用效率,还决定 mRNA 的翻译位点及翻译效率,调控 mRNA 细胞内运输及胞质定位等多种代谢过程。3'UTR 既可以与 microRNAs 或者 RNA 结合蛋白相互作用来反式调控基因的表达,从而阻止 mRNA 的翻译或直接降解靶 mRNA,同时 3'UTR 也可以作为独立存在的 RNA 分子发挥功能,近年来通过对肿瘤全基因组相关研究发现突变发生在 3'UTR 或与 microRNA 结合区会破坏细胞内的调控机制,从而影响肿瘤的发生发展,使 3'UTR 成为目前研究热点,并使其有望成为肿瘤诊断和治疗的新标志物甚至药物靶点。

关键词 真核生物 3'非翻译区 mRNA 代谢 独立分子 突变 肿瘤

中图分类号 R34 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.02.003

真核生物 3'非翻译区(3'untranslated regions, 3'UTR)即非翻译区,是指 mRNA 分子两端的非编码片段,研究发现,许多 mRNA 的调控元件存在于 5'UTR 及 3'UTR 中,5'UTR 主要起始调控 mRNA 翻译,3'UTR 调控 mRNA 的多种代谢,包括出核、胞质定位、翻译效率及 mRNA 稳定性等^[1]。此前一直对 mRNA 的 5'UTR 的研究颇多,而对 3'UTR 的研究相对较少,近几年来,真核 mRNA 的 3'UTR 在基因表达调控中的作用越来越受到重视,随着对人类全基因组相关研究的蓬勃发展,人们发现突变发生在非编码区要比编码区更易引起疾病,如突变发生在 3'UTR 或与 miRNA 结合区,会破坏细胞调控机制,从而引起疾病甚至细胞恶性转化进而导致肿瘤发生^[3]。本文将对 3'UTR 转录后水平调控及其突变与肿瘤的关系的研究进展做一综述。

一、3'UTR 和 5'UTR 的关系

真核生物 mRNA 的 5'UTR 从 mRNA 起点的甲基化鸟嘌呤核苷酸帽延伸至 AUG 起始密码子,3'UTR 从编码区末端的终止密码子延伸至多聚 A 尾巴(poly-A)的末端。真核生物的 mRNA 一般具有共同的结构,包括外显子、内含子,5'和 3'非翻译区,5'端是帽子结构,3'端是 poly(A)结构,在 mRNA 的翻

译和非翻译区包含很多信号,如翻译起始和终止信号等。研究表明,mRNA 的 5'UTR 与 3'UTR 在 mRNA 的翻译过程中互相依赖、相互协同以提高翻译效率,其中 5'UTR 通常包含增强调控元件(enhancer regulatory element),主要调控 mRNA 翻译的起始,3'UTR 主要参与调控 mRNA 的多种代谢,包括调控 mRNA 的体内稳定性及降解速率,控制其利用效率,协助辨认特殊密码子,还决定 mRNA 的翻译位点及控制其翻译效率,其中包括 mRNA 的折叠、核内运输相互作用、mRNA 加工、剪切和翻译以及细胞内的运输和定位等^[2]。如果 mRNA 的 5'帽子结构缺失则不能促进其翻译,在某些物种中其帽子结构存在但 poly(A)尾缺乏的情况下也可以起始翻译,但是其翻译效率并不会太高,若 poly(A)尾巴或类似功能的结构同时存在时,可使 mRNA 的翻译效率提高一个数量级,提示 5'帽子和 3'poly(A)尾巴在缺少任何一方时都会对翻译产生负面影响,帽子和 poly(A)尾以及类似的结构在翻译时是相互作用、相互影响的^[4]。

二、3'UTR 的转录后水平调控

1. 3'UTR 末端加工信号调控 mRNA 3'末端的加工:3'UTR 内存在末端加工信号以指导 mRNA 3'末端的加工,人类 mRNA 转录本中 3'UTR 平均长度 > 500nt,几乎是 5'UTR 平均长度的 4 倍,这种长度使得 3'UTR 包含更多的结构元件及更多的与反式作用因子结合的位点,从而赋予 3'UTR 行使特异转录调控功能的重要使命^[5]。3'末端存在两个很重要的保守序列:①位于切割位点上游 10~35nt 处的 AAUAAA 序列;②poly(A)位点下游的富含 U 或 GU 的序列,它

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81572635);北京大学人民医院研究与发展基金资助项目(RDY2018-08)

作者单位:100044 北京大学人民医院病理科(康南、王颖、毛伊雯、燕太强、沈丹华);100021 中国医学科学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室(王宇)

通讯作者:燕太强,电子信箱:yangtzh@163.com;沈丹华,电子信箱:shenpath59@163.com

们可以被 pre mRNA 加工复合物特异的 RNA 结合蛋白(RBPs)所识别和结合,参与调控 mRNA 多种代谢过程^[6]。

2. 3'UTR 调控 mRNA 的稳定性及翻译过程:真核细胞 3'UTR 在基因转录后水平的调控中起到非常重要的作用,其参与 mRNA 代谢的多个过程,包括调控 mRNA 3'末端的加工,如 mRNA 的剪切和多聚腺苷酸化过程,还可以参与调控 mRNA 翻译过程、mRNA 稳定性、mRNA 降解及其细胞定位与运输等过程。mRNA 降解是基因表达调控的一个重要机制,适时地关闭不再需要表达的基因和清除不再有用的 mRNA 是基因表达调控的重要阶段,转录本中参与调节 mRNA 稳定性的元件也存在于 3'UTR 中^[2]。mRNA 翻译过程的调控对于基因表达的影响是非常重要的,通过一系列反式作用因子与 mRNA 的 5'UTR 或者 3'UTR 结合从而影响 mRNA 翻译的起始、延伸及终止的过程,3'UTR 对 mRNA 翻译的调控主要通过以下两方面进行:(1) 翻译效率的调控:在多数情况下,3'UTR 含有多种顺式作用元件,它们能与反式作用因子相互作用来抑制翻译的进行,其中最常见顺式作用元件有富含 AU 的元件(AREs)、富含 GU 的元件(GREs)、富含 CU 的元件(CUREs)及分化调控元件(DICEs)、富含 CA 的元件(CAREs)、离子反应元件(IREs)和硒代半胱氨酸插入序列元件(SECIS),它们可以与相应的反式作用因子相互作用从而调控 mRNA 的翻译效率。(2) 编码功能的调控:在真核细胞中,UGA 密码子一般是翻译终止信号,但在 3'UTR 内存在的顺式作用元件“硒代半胱氨酸插入序列”(SECIS)的指导下,UGA 编码的罕见硒代半胱氨酸(Se-Cys)能掺入多肽链中,从而控制某些特殊遗传密码子的辨认,进而调控 mRNA 的编码功能^[7]。

3. 3'UTR 控制 mRNA 的定位:3'UTR 在转录本的定位和翻译调控中起到至关重要的作用,这包括 mRNA 的定位和蛋白质合成的胞质定位,mRNA 的定位主要取决于顺式作用元件 3'UTR,这种定位元件长度一般从几个核苷酸(nt)到 >1kb,且主要存在于 3'UTR 中^[8]。研究表明,细胞质内有很多 mRNA 是特定定位的,这在果蝇卵细胞中表现最为突出,其内的许多 mRNA 和蛋白质的正确定位对胚胎极性的建立以及随后的胚胎分裂是必需的,mRNA 在胞质中的具体定位与转录本和细胞骨架之间的相互作用有关^[7]。

4. 3'UTR 与主要的反式作用因子相互作用参与

基因转录后水平的调控:众所周知,3'UTR 可以与反式作用因子相互作用从而参与基因转录后水平的调控,目前常见的反式作用因子主要有 RNA 结合蛋白(RBPs)和非编码 RNAs(non coding RNAs),其中包括 microRNAs(miRNAs),small nucleolar RNAs(snoRNAs)及 long non coding RNAs(lncRNAs)。miRNAs 是一些由内源性基因编码的长度约 22nt 的单链 non coding RNAs,它们的靶向序列一般有 2~8 个核苷酸与 mRNA 3'UTR 的 5'端或“seed region”互补结合来调控基因的表达,从而阻止靶 mRNA 的翻译或者直接降解靶 mRNA^[9]。第 1 个被确认的 miRNA——在线虫中首次发现的 lin-4 和 let-7,可以通过部分互补结合到目的 mRNA 靶的 3'非编码区(3'UTRs),以一种未知方式诱发蛋白质翻译抑制,进而抑制蛋白质合成,通过调控一组关键 mRNAs 的翻译从而调控线虫发育进程,目前已有越来越多人证明了突变发生在 miRNA 或 3'UTR 的靶向区域内将改变靶基因的表达进而影响肿瘤的发生率^[3,10]。

3'UTR 也可以与 RNA 结合蛋白相互作用参与基因转录后水平的调控,RBPs 通过招募其他的效应分子或者直接与 3'UTR 的顺式作用元件相互结合从而参与基因转录后水平的调控,近年来研究发现一些核酸分子可以介导蛋白及蛋白的相互作用(PIP),从而调控蛋白质的多种代谢过程包括蛋白复合物的形成、蛋白质的定位及蛋白的功能等过程,而不改变其自身的氨基酸序列,这为拓宽 3'UTR 的功能提供思路^[11,12]。

三、3'UTR 与肿瘤的关系

1. 3'UTR 的突变与肿瘤的关系:正常组织中,调控细胞增殖、凋亡、细胞寿命、细胞侵袭和极性的这些通路是正常有序进行的,而在肿瘤组织中,这些通路是调控异常的,目前已经有多篇报道,在人类肿瘤细胞中发现一些 mRNA 3'UTR 的突变和异常表达,而这些突变和异常是存在于肿瘤的病变开始到侵袭转移过程中的,从而能调控肿瘤发生、进展和转移等过程^[3]。3'UTR 突变包括点突变、移位、缺失、扩增等形式,其中点突变若发生在与 miRNA 结合区将会产生或破坏 miRNA 与 mRNA 的结合,从而引发恶性转化,3'UTR 缺失会通过选择性改变 poly(A)来缩短 3'UTR 从而改变 miRNA 调控的癌基因,例如癌基因 IGF2BP1/IMP1,将会导致癌基因的转化^[13]。近年来,通过对人类全基因组相关研究发现突变发生在非编码区要比编码区的突变更易引起疾病,突变发生在

3'UTR 的结合区或 miRNA 会破坏调控机制,从而引起细胞恶性转化导致肿瘤发生^[3]。有文献报道 BRCA1 的 3'UTR 区的单核苷酸突变将成为一个肿瘤标志物来预测肿瘤风险,在 BRCA1 突变的患者中 PHB 和 MTHFR 的 3'UTR 的单核苷酸突变导致乳腺癌发生风险增加^[14];另外有研究发现 3'UTR 与 microRNA 的结合区发生突变将会影响肿瘤的发生,如 REV3L 基因 3'UTR 单核苷酸突变后促进肺癌的发生^[15]。表皮生长因子受体(EGFR)通过介导细胞寿命、细胞凋亡、肿瘤侵袭和转移来参与致癌过程,最近发现 EGFR 的 3'UTR 774T>C 突变能促进膀胱癌的发生^[16]。KIT 基因 3'UTR 与 microRNA 结合区发生突变后会增加肢端黑色素瘤发生的风险^[17];mannose-binding lectin 2 (MBL2)的 3'UTR 的 SNP 可以增加结直肠癌发生的风险^[18]。MDM4 基因能通过抑制 p53 蛋白功能促进肿瘤的发生,因此当 MDM4 的 3'UTR 突变将会影响卵巢癌的进展及化疗敏感度进而延迟卵巢癌进展和肿瘤相关的死亡^[19]。Thymidylate synthase (TS)基因的 3'UTR 的突变与非小细胞肺癌的化疗敏感度有关^[20]。MYCL1 基因的 3'UTR 的 SNP 将会增加小细胞肺癌的易感性^[21];cyclin E1 基因的 3'UTR 的 SNP 与鼻咽癌发生相关^[22]。这些提示 3'UTR 的突变对于肿瘤的发生、发展具有重要的作用,这使其有可能成为评估肿瘤发生风险的生物标志物。

2.3'UTR 作为独立 RNA 分子与肿瘤的关系:众所周知,3'UTR 可以通过与反式作用因子主要有 RNA 结合蛋白(RBPs)及 miRNAs 相互作用来调控 mRNA 多种代谢过程。近年来,越来越多的研究发现 3'UTR 可以作为独立的 RNA 分子发挥来调控靶基因的表达和相应的生物学活性。有文献报道,抗增殖蛋白基因 prohibitin mRNA 拥有较长的 3'UTR,它发挥的抗增殖活性区域定位于 3'UTR,研究发现 prohibitin 3'UTR 在乳腺癌细胞中可以以一种独立的 RNA 分子发挥抑癌功能^[23]。另外有研究发现,C/EBP β 3'UTR 包含肿瘤抑制功能的 RNA 调控元件,其 3'UTR 可以作为独立存在的 RNA 分子发挥抑癌功能^[24]。核苷酸还原酶基因的 3'UTR 可以作为一种重要限制酶参与 DNA 合成从而抑制转化成纤维细胞与肿瘤细胞(HeLa)的生长增殖和转移的过程,这些研究提示 3'UTR 可能可以单独作为抑癌基因又可以作为癌基因来发挥作用,使得 3'UTR 可能作为一种新的 RNA 分子成为肿瘤诊断的分子标志物或者药物靶点从而指导肿瘤的诊断和治疗^[25]。

综上所述,3'UTR 在转录后水平的调控及其突变在细胞分化、生长发育、增殖凋亡及肿瘤发生、发展过程中发挥如此重要的作用,也越来越多的引起研究者的关注,随着对于 3'UTR 及 miRNA 作用机制的深入研究,将有助于更加全面地了解细胞生长、分化、恶性转化、细胞周期调控等生命现象的复杂性,从而使人们对于高等真核生物基因表达调控的网络理解提高到一个新的水平,随着对 3'UTR 与肿瘤关系的研究的进一步深入,也将使 3'UTR 可能成为肿瘤诊断的新的生物学标志,还可能使得这一分子成为药靶,或是模拟这一分子进行新药研发,从而可能为人类疾病及肿瘤的预防、诊断和治疗提供一种新的手段,并拓宽 3'UTR 相关肿瘤的诊断和治疗的领域和视野。

参考文献

- Nowotarski SL, Shantz LM. The ODC 3' - untranslated region and 5' - untranslated region contain cis - regulatory elements: implications for carcinogenesis[J]. Med Sci, 2017, 6(1): 1 - 9
- Mayr C. Regulation by 3' - untranslated regions[J]. Ann Rev Genet, 2017, 51(1): 171 - 194
- McNally L, Manne U, Grizzle WE. Post - transcriptional processing of genetic information and its relation to cancer[J]. Biotech Histochem Off, 2013, 88(7): 365 - 372
- Gallie DR. A tale of two termini: a functional interaction between the termini of an mRNA is a prerequisite for efficient translation initiation [J]. Gene, 1998, 216(1): 1 - 11
- Pesole G, Liuni S, Grillo G, et al. UTRdb and UTRsite: specialized databases of sequences and functional elements of 5' and 3' untranslated regions of eukaryotic mRNAs. Update 2002[J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30(1): 335 - 340
- Wahle E, Keller W. The biochemistry of 3' - end cleavage and polyadenylation of messenger RNA precursors[J]. Annual Rev Biochem, 1992, 61(1): 419 - 440
- Andreassi C, Riccio A. To localize or not to localize: mRNA fate is in 3'UTR ends[J]. Trends Cell Biol, 2009, 19(9): 465 - 474
- Jambhekar A, Derisi J. Cis - acting determinants of asymmetric, cytoplasmic RNA transport[J]. Rna - a Publicat Rna Society, 2007, 13(5): 625 - 642
- Kim GH. MicroRNA regulation of cardiac conduction and arrhythmias [J]. Translat Res J Lab Clin Med, 2013, 161(5): 381 - 392
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin - 4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin - 14[J]. Cell, 1993, 75(5): 843 - 854
- Berkovits BD, Mayr C. Alternative 3'UTRs act as scaffolds to regulate membrane protein localization [J]. Nature, 2015, 522 (7556): 363 - 367
- Chartron JW, Hunt KC, Frydman J. Cotranslational signal independent SRP preloading during membrane targeting[J]. Nature, 2016, 536(7615): 224 - 228
- Mayr C, Bartel DP. Widespread shortening of 3'UTRs by alternative

- cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells[J]. Cell, 2009, 138(4): 673 – 684
 - 14 Jakubowska A, Rozkrut D, Antoniou A, *et al.* Association of PHB 1630 C>T and MTHFR 677 C>T polymorphisms with breast and ovarian cancer risk in BRCA1/2 mutation carriers: results from a multicenter study[J]. Bri J Cancer, 2012, 106(12): 2016 – 2024
 - 15 Zhang S, Chen H, Zhao X, *et al.* REV3L 3'UTR 460 T>C polymorphism in microRNA target sites contributes to lung cancer susceptibility[J]. Oncogene, 2013, 32(2): 242 – 250
 - 16 Chu H, Wang M, Jin H, *et al.* EGFR 3'UTR 774T>C polymorphism contributes to bladder cancer risk[J]. Mutagenesis, 2013, 28(1): 49 – 55
 - 17 Godshalk S E, Paranjape T, Nallur S, *et al.* A Variant in a MicroRNA complementary site in the 3'UTR of the KIT oncogene increases risk of acral melanoma[J]. Oncogene, 2011, 30(13): 1542 – 1550
 - 18 Zanetti KA, Haznadar M, Welsh JA, *et al.* 3'UTR and functional secretor haplotypes in mannose – binding lectin 2 are associated with increased colon cancer risk in African Americans[J]. Cancer Res, 2012, 72(6): 1467 – 1477
 - 19 Wynendaele J, Böhne A, Leucci E, *et al.* An Illegitimate microRNA Target Site within the 3' UTR of MDM4 affects ovarian cancer progression and chemosensitivity[J]. Cancer Res, 2010, 70(23): 9641 – 9649
 - 20 Xia W, Wang Y, Yue W, *et al.* Association of thymidylate synthase gene 3' – untranslated region polymorphism with sensitivity of non – small cell lung cancer to pemetrexed treatment: TS gene polymorphism and pemetrexed sensitivity in NSCLC[J]. J Biomed Sci, 2013, 20(1): 1 – 8
 - 21 Xiong F, Wu C, Chang J, *et al.* Genetic Variation in an miRNA – 1827 Binding Site in MYCL1 Alters Susceptibility to Small – Cell Lung Cancer[J]. Cancer Research, 2011, 71(15): 5175 – 5181
 - 22 Liu Y, Cai H, Liu J, *et al.* A miR – 151 binding site polymorphism in the 3' – untranslated region of the cyclin E1 gene associated with nasopharyngeal carcinoma[J]. Biochem Biophy Res Commun, 2013, 432(4): 660 – 665
 - 23 Manjeshwar S, Branam DE, Lerner MR, *et al.* Tumor suppression by the prohibitin gene 3'untranslated region RNA in human breast cancer [J]. Cancer Res, 2003, 63(17): 5251 – 5256
 - 24 Wang Y, Sun DQ, Liu DG. Tumor suppression by RNA from C/EBPβ 3'UTR through the inhibition of protein kinase Cε activity[J]. PLoS One, 2011, 6(1): e16543:1 – 10
 - 25 Fan H, Villegas C, Huang A, *et al.* Suppression of malignancy by the 3' untranslated regions of ribonucleotide reductase R1 and R2 messenger RNAs[J]. Cancer Res, 1996, 56(19): 4366 – 4369
- (收稿日期:2018 – 04 – 08)
- (修回日期:2018 – 05 – 18)
-
- (上接第 7 页)
- 12 Cohen KJ, Pollack IF, Zhou T, *et al.* Temozolomide in the treatment of high – grade gliomas in children: A report from the Children's Oncology Group[J]. Neuro Oncol,2011, 13(3): 317 – 323
 - 13 Li G, Mitra SS, Monje M, *et al.* Expression of epidermal growth factor variant III (EGFRvIII) in pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas[J]. J Neurooncol, 2012, 108(3): 395 – 402
 - 14 Bax DA, Mackay A, Little SE, *et al.* A distinct spectrum of copy number aberrations in pediatric high – grade gliomas[J]. Clin Cancer Res,2010, 16(13): 3368 – 3377
 - 15 Paugh B S, Broniscer A, Qu C, *et al.* Genome – wide analyses identify recurrent amplifications of receptor tyrosine kinases and cell – cycle regulatory genes in diffuse intrinsic pontine glioma[J]. J Clin Oncol,2011, 29(30): 3999 – 4006
 - 15 Buczkwicz P, Hoeman C, Rakopoulos P, *et al.* Genomic analysis of diffuse intrinsic pontine gliomas identifies three molecular subgroups and recurrent activating ACVR1 mutations[J]. Nat Genet, 2014, 46(5): 451 – 456
 - 17 Jha P, Pia PI, Shukla S, *et al.* Genome – wide methylation profiling identifies an essential role of reactive oxygen species in pediatric glioblastoma multiforme and validates a methylome specific for H3 histone family 3A with absence of G – CIMP/isocitrate dehydrogenase 1 mutation[J]. Neuro Oncol, 2014, 16(12): 1607 – 1617
 - 18 Jones C, Perryman L, Hargrave D. Paediatric and adult malignant glioma: close relatives or distant cousins? [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2012, 9(7): 400 – 413
 - 19 Fontebasso AM, Schwartzentruber J, Khuong – Quang DA, *et al.* Mutations in SETD2 and genes affecting histone H3K36 methylation target hemispheric high – grade gliomas[J]. Acta Neuropathol. 2013, 125(5): 659 – 669
 - 20 Khuong – Quang DA, Buczkwicz P, Rakopoulos P, *et al.* K27M mutation in histone H3.3 defines clinically and biologically distinct subgroups of pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas[J]. Acta Neuropathol,2012, 124(3): 439 – 447
 - 21 Weller M, Stupp R, Reifenberger G, *et al.* MGMT promoter methylation in malignant gliomas: Ready for personalized medicine? [J]. Nat Rev Neurol,2010, 6(1): 39 – 51
 - 22 Noushmehr H, Weisenberger DJ, Diefes K, *et al.* Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma[J]. Cancer Cell, 2010, 17(5): 510 – 522
 - 23 Waldmann T, Schneider R. Targeting histone modifications – – epigenetics in cancer[J]. Curr Opin Cell Biol,2013, 25(2): 184 – 189
 - 24 Schwartzentruber J, Korshunov A, Liu XY, *et al.* Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma[J]. Nature, 2012, 482(7384): 226 – 231
- (收稿日期:2018 – 04 – 17)
- (修回日期:2018 – 05 – 22)