

长链非编码 RNA Linc - ROR 与恶性肿瘤发生、发展关系的研究进展

刘帅臣 李玉明

摘要 重编程调节因子(ROR)是一类最近被鉴别出来的长链非编码 RNA。Linc - ROR 在人类多种肿瘤组织尤其是消化系统恶性肿瘤中异常表达。近期研究表明,Linc - ROR 不仅在多能干细胞的重编程过程中具有重要调控作用,而且还与肿瘤的增殖、侵袭、转移、放射治疗、化学治疗耐药性等病理生理过程密切相关,严重影响着患者的生存与预后。随着研究的不断深入,Linc - ROR 有望成为新型肿瘤诊断、预后标志物以及潜在的治疗新靶点。

关键词 恶性肿瘤 长链非编码 RNA Linc - ROR

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.07.005

在人类基因组中仅有 2% 的基因具有编码蛋白的功能,其中绝大多数是由非编码 RNA 组成。已有研究证实非编码 RNA 在调节细胞功能和疾病发展过程中发挥关键作用,其中长链非编码 RNA(lncRNAs)在肿瘤发生、发展中的作用及角色成为当前研究的热点问题。lncRNAs 是指(转录本)长度超过 200nt、无编码蛋白功能的一类 RNA 分子^[1]。尽管其不具有编码蛋白的功能,但可通过基因印记、染色质修饰等多种方式在表观遗传学、转录及转录后等多个层面调控生长发育相关靶基因的表达^[2]。Linc - ROR 是 lncRNAs 家族中的重要成员,近年来研究发现其在多种肿瘤组织中表达失调,与肿瘤的生长增殖、侵袭转移、放射治疗、化学治疗耐药性等病理生理过程密切相关。本文就近年来有关 Linc - ROR 在人类恶性肿瘤中的研究进展做一系统综述。

一、Linc - ROR 的概述

Linc - ROR 是一种基因位于染色体 18q21.31、包含 4 个外显子的、长度为 2.6kb 的长链非编码 RNA,亚细胞定位结果显示胞质及胞核中均有表达。它最初是在诱导多能干细胞相关的研究中被发现,具有通过阻止 P53 信号通路的激活参与多能干细胞及上皮干细胞的自我更新和干性维持的作用^[3]。后续研究也表明 Linc - ROR 除了参与多能干细胞自我更新和干性维持外,还可以通过影响 Oct4、Sox2 和 Nanog 等多能性转录因子的表达,促进多种肿瘤细胞

对放、化疗的耐药^[4~7]。肿瘤转移是一个复杂的生物学现象,它是由一系列相互联系、序贯的步骤组成的高度选择的、非随机的过程,其中肿瘤细胞发生上皮间质转化(EMT)被认为是造成肿瘤转移的关键因素之一。近期研究发现 Linc - ROR 还可作为分子海绵吸附特定的微小 RNA(miRNAs),调控下游相关靶基因的表达,诱导肿瘤细胞发生 EMT 转化,促进了肿瘤的转移与复发^[8]。在包括消化系统肿瘤、乳腺癌、卵巢癌、肺癌等多种肿瘤组织中差异表达,发挥着重要的调控作用。

二、Linc - ROR 与消化系统肿瘤

1. Linc - ROR 与胃癌:肿瘤干细胞是一类拥有自我更新能力的细胞,在癌症的转移、复发以及耐药性中扮演着重要角色,被称为肿瘤的“种子”。Wang 等^[4]通过流式细胞仪从 MKN - 45 细胞中分选出了 CD133⁺ 的胃癌干细胞(GCSCs),并首次证实在 CD133⁺ 的 GCSCs 中 Linc - ROR 表达量明显升高。通过功能性实验分析发现 Linc - ROR 能显著提高 GCSCs 的增殖与侵袭力,并能够抑制细胞的凋亡。为了进一步探讨 Linc - ROR 对于维持胃癌细胞干细胞特性的作用,运用 qRT - PCR 及免疫印迹技术证实 Linc - ROR 能够通过上调细胞干性相关转录因子(OCT4、SOX2 以及 Nanog)的表达,有效的维持了胃癌干细胞特性。Zou 等^[9]采用实时定量 PCR 技术检测了 137 例胃癌组织及对应的癌旁正常组织,结果提示 Linc - ROR 的表达水平在肿瘤组织中是显著升高的,其表达量与肿瘤直径、肿瘤浸润深度、肿瘤分化程度、淋巴结转移和 TNM 分期密切相关。通过对数

基金项目:山东省自然科学基金资助项目(面上项目)(ZR2017LH050)

作者单位:256603 滨州医学院附属医院胃肠外科

通讯作者:李玉明,教授,电子信箱:Lym110204@126.com

秩检验及 Kaplan - Meier 方法分析发现 Linc - ROR 的表达与胃癌患者的总生存期显著相关, Linc - ROR 的表达量越高, 患者的总体生存期越短。多因素分析显示 Linc - ROR 可作为胃癌患者的独立预后因素。以上结果表明, Linc - ROR 作为胃癌重要的调控因子, 其对胃癌的预后评估和靶向治疗有着积极的意义。

2. Linc - ROR 与肝癌: 由于肝癌细胞所具有的辐射抗性, 使放射治疗在肝癌的治疗中无法发挥出理想的效果。Chen 等^[10]通过对建立的抗放射线肝癌细胞系分析发现, Linc - ROR 在抗放射线细胞系中表达量是增高的, 经功能获得型及缺失型模型分析表明, 过表达 Linc - ROR 可增强肝癌细胞的 DNA 修复以及放射抗性, 其作用机制可能是 Linc - ROR 通过分子海绵的方式吸附 miR - 145, 上调其下游靶基因 RAD18 的表达而实现的。有研究显示经 TGF - β 诱导的肝癌细胞化疗耐药性是显著增强的, 然而其具体机制却不清楚。Takahashi 等^[11]通过基因表达谱分析发现, 经 TGF - β 诱导肝癌细胞分泌的细胞外囊泡内 lncRNAs 是异常表达的, Linc - ROR、Linc - VLDLR、HOTAIR、Tsix 等 lncRNAs 表达水平是显著升高的。通过进一步体外实验得出结论, TGF - β 有可能是通过间接调控细胞外囊泡中 Linc - ROR 的表达量进而影响肝癌细胞对化疗药物的耐受性。以上结果表明, 抑制 Linc - ROR 的活性有可能成为增加肝癌对放、化疗的敏感度、改善患者生存质量的重要途径。

3. Linc - ROR 与结直肠癌: Li 等^[12]采用实时 PCR 技术检测了 78 例结直肠癌组织标本及 7 种结直肠癌细胞系, 发现在结直肠癌组织和细胞系中 Linc - ROR 的表达均高于匹配的正常组织及细胞; 通过干扰 Linc - ROR 的表达后, 抑制了细胞的生长, 使细胞周期停滞在 G₀/G₁ 期, 并增加了细胞的凋亡。P53 作为一种重要的抑癌基因, 调控着细胞的生长、分化、凋亡及 DNA 修复等多种生物学过程^[13]。研究者发现过表达 Linc - ROR 可抑制 P53 及其靶基因 (p21 和 FAS) 的表达, 进而促进结直肠癌细胞的生长增殖以及裸鼠体内肿瘤的生长。放射治疗被认为是结直肠癌患者术前的标准治疗, 然而相当多的患者对放射疗法具有抵抗性。Yang 等^[7]通过大样本分析发现 Linc - ROR 在结肠直肠癌组织和细胞系中均过表达。细胞凋亡加快是放射治疗引起的最重要的损伤之一。功能实验发现, 转染 Linc - ROR 基因后, 能够明显抑制细胞的增殖, 增加其凋亡, 提高了细胞对放疗的敏感度。最终证实 Linc - ROR 可通过靶向 P53/miR -

145 途径促进结直肠癌细胞的增殖及对放疗的耐受性, 同时减慢细胞的凋亡。Zhou 等^[14]在大量结直肠癌组织样本中检测证实 Linc - ROR 与 miR - 145 的表达量呈明显的负相关, 且其表达水平与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、血管侵犯、TNM 分期密切相关。Kaplan - Meier 分析显示 Linc - ROR 高表达的患者普遍具有较差的总生存期 (OS) 和无病生存期 (DFS), 单因素和多因素分析表明 Linc - ROR 可作为结直肠癌患者预后的独立影响因素, 其表达量越高, 患者的生存率越低, 预后越差。所有这些结果提示, Linc - ROR 作为一种致癌基因, 参与了结直肠癌细胞的增殖、凋亡及放疗耐受性, 可作为结直肠癌治疗的潜在靶点, 同时也可作为预测结直肠癌预后的新指标。

4. Linc - ROR 与食管癌: Shang 等^[15]通过生物信息学的方法发现 Linc - ROR 的表达水平与食管鳞状细胞癌患者预后不良相关, 同时采用实时荧光定量 PCR 对 91 例食管癌组织及其匹配的正常组织进行验证得到了相同的结果。lncRNAs 可作为分子海绵吸附特定的 miRNAs, 调节下游靶基因的蛋白水平, 参与调控细胞的生物学行为。体外实验证实过表达 Linc - ROR 可增强食管癌细胞的侵袭与迁移能力, 为进一步研究其分子机制, 通过荧光素酶报告基因及 RNA 免疫沉淀技术测定发现 Linc - ROR 与 miR - 145 有两个结合位点, 过表达 Linc - ROR 可下调高达 50% 的 miR - 145, 这进一步验证了二者的相关性。FSCN1 作为 FSCN 家族中的重要成员, 具有促进细胞运动、扩散的重要作用, Linc - ROR 可通过与 miR - 145 竞争性结合, 增加 FSCN1 的表达水平进而促进食管癌细胞的侵袭与转移^[16]。

5. Linc - ROR 与胆囊癌: Wang 等^[17]报道, 胆囊癌组织及细胞中均检测到 Linc - ROR 过表达, 且其表达水平与肿瘤直径、淋巴结转移呈正相关, Kaplan - Meier 生存分析和对数秩检验显示, Linc - ROR 的高表达与胆囊癌患者的总体生存时间密切相关。通过过表达及敲除实验发现 Linc - ROR 可促进胆囊癌细胞的增殖、侵袭及迁移, 抑制细胞的凋亡。转化生长因子 β (TGF - β) 作为肿瘤发生及转移的关键调控者, TGF - β 相关信号通路的改变可引起癌细胞发生 EMT 转变从而增强肿瘤的增殖、侵袭与转移。实验证明抑制 Linc - ROR 的表达后可逆转经 TGF - β 1 诱导的细胞发生 EMT 转化, 故 Linc - ROR 可能作为治疗胆囊癌分子靶标及预后的潜在生物学标志物。

6. Linc - ROR 与胰腺癌: 吉西他滨耐药是胰腺癌

化疗失败的主要原因之一。Li 等^[5]发现在胰腺癌组织和细胞中 Linc - ROR 的表达均升高,体外实验证实过表达或敲除 Linc - ROR 后能够影响细胞的增殖、凋亡及对化疗药物吉西他滨的敏感性。生物信息学分析表明,Linc - ROR 和 miR - 124 之间包含相应的结合位点,通过荧光原位杂交和荧光素酶报告基因实验证实了 Linc - ROR 与 miR - 124 表达之间呈负相关,最终确定 Linc - ROR 是通过诱导自噬和调节 miR - 124/PTBP1/PKM2 轴增加了胰腺癌细胞对吉西他滨的耐药性。Zhan 等^[18]通过功能学实验证实 Linc - ROR 影响胰腺癌细胞的增殖、侵袭和转移。将转染 Linc - ROR 的胰腺癌细胞通过尾静脉注入小鼠体内可促进胰腺癌细胞远处转移(肝脏、肺脏)。通过基因芯片筛选出了显著差异表达的 ZEB1 基因,大量文献已证实 ZEB1 在多种肿瘤中异常表达,通过调节肿瘤细胞的 EMT 过程,促进肿瘤发生、发展。在探讨 LincRNA - ROR 与胰腺癌发生机制关系时发现,LincRNA - ROR 通过抑制 P53 的激活,上调 ZEB1 诱导肿瘤细胞发生 EMT,促进了胰腺癌的侵袭和转移。Gao 等^[19]通过对大量组织样本进行统计分析证实 Linc - ROR 在胰腺癌中呈高表达,其表达水平与肿瘤直径及患者预后密切相关。通过体外实验证实敲除 Linc - ROR 后能够抑制胰腺干细胞(PCSCs)的生长及迁移,促进细胞发生凋亡,同时可导致注入裸鼠体内 PCSC 的致瘤性显著降低,对裸鼠肿瘤组织进行免疫组化分析发现,瘤内 Nanog 和 Ki67 的表达明显下调。最终证实了 Linc - ROR 作为 miR - 145 的 ceRNAs,通过调节多能性转录因子 Nanog 的表达进而影响 PCSCs 的干性维持及生物学作用,促进胰腺癌的发生、发展。以上研究结果表明,Linc - ROR 作为胰腺癌重要的调节因子,通过多过程、多因素共同调控胰腺癌的发展。

三、Linc - ROR 与乳腺癌

作为治疗癌症最有效的化疗药物,5 - 氟尿嘧啶(5 - FU)和紫杉醇已被广泛应用于临床。既往的研究表明 5 - FU 和紫杉醇能够逆转肿瘤的 EMT 过程,抑制肿瘤的侵袭转移。通过实时荧光定量 PCR 技术检测 142 例乳腺癌组织标本,Li 等^[20]研究发现 Linc - ROR 的表达量高于正常组织,其表达水平与淋巴结转移密切相关。随后,研究者通过过表达和敲除试验发现 Linc - ROR 具有促进 EMT 的进展过程、拮抗 5 - FU 和紫杉醇抑癌的作用,但 Linc - ROR 调控乳腺癌细胞侵袭与耐药的具体作用机制仍需进一步

深入探索。他莫昔芬作为乳腺癌患者内分泌治疗的一线药物,已广泛应用于临床。目前有证据表明因为生长因子信号的干扰以及雌激素受体的突变,导致近年来激素非依赖型乳腺癌的患者比例明显上升,加剧了患者对内分泌治疗的耐药性。Peng 等^[21]通过对构建的雌激素非依赖型乳腺癌细胞模型分析发现,Linc - ROR 的表达增加倍数变化是最大的。通过功能试验发现其能促进乳腺癌细胞的增殖,并与他莫昔芬的药物抵抗性有关。DUSP7 作为 ERK 的负性调节因子,有研究证实 DUSP7 表达下调与乳腺癌患者的不良生存预后有关。进一步探讨其机制发现 Linc - ROR 通过抑制 DUSP7 的表达,继而激活 MAPK/ERK 信号,最终增强雌激素非依赖性乳腺癌细胞对他莫昔芬的耐药性。Zhao 等^[22]在乳腺癌外周血液样本中检测到 Linc - ROR 呈高表达,且其表达水平与淋巴结转移、雌激素受体、孕激素受体的表达呈正相关。另外,通过对乳腺癌患者手术前后血浆中 Linc - ROR 的表达量分析发现,术后血浆中 Linc - ROR 的表达量明显下降。此外相比于乳腺癌常用的血清肿瘤标志物 CEA 和 CA153,Linc - ROR 有着更高的敏感度和特异性,且将 3 种标志物联合检测可提高乳腺癌的早期检出率。上述研究结果证实,Linc - ROR 极有可能在未来成为乳腺癌的特异性分子诊断标志物及治疗的有效靶点。

四、Linc - ROR 与卵巢癌

在卵巢癌中 Linc - ROR 的表达明显高于其匹配的正常卵巢与输卵管组织,且高表达的 Linc - ROR 与 TNM 分期、淋巴结转移呈正相关。在体内外实验中过表达的 Linc - ROR 可促进卵巢癌细胞的生长、转移和肿瘤在体内的生长。为了深入了解具体机制,通过 Western blot 法检测发现,Linc - ROR 表达量的变化可影响 EMT 标志物(E - cadherin、Vimentin)及 Wnt/ β - catenin 信号通路的关键基因(β - catenin 及 c - myc)的表达。这些结果提示 Linc - ROR 可通过调控 Wnt/ β - catenin 信号通路诱导卵巢癌细胞发生 EMT 促进卵巢癌的侵袭与转移。

五、Linc - ROR 与肺癌

Shi 等^[23]发现在顺铂耐药肺癌细胞株中 Linc - ROR 的表达量高于普通肺癌细胞株,过表达 Linc - ROR 后可促进肺癌细胞的增殖、侵袭及小鼠移植瘤的重量与体积,同时逃避细胞的凋亡。深入探讨其机制证实 Linc - ROR 通过激活 PI₃K/AKT/mTOR 信号通路最终增强肺癌细胞对顺铂的耐药性。有研究采

用实时荧光定量 PCR 技术检测了 229 例肺癌组织标本,发现 Linc - ROR 在肿瘤组织中明显高于配对的正常组织,且肿瘤组织中 Linc - ROR 的表达量与 TNM 分期、远处转移及淋巴结转移呈正相关。*Kaplan Meier* 生存分析和多因素分析进一步表明,Linc - ROR 高表达与更短的 OS 和 DFS 显著相关,Linc - ROR 可作为肺癌患者 OS 和 DFS 的独立预测因子。有研究经基因芯片筛选出了表达量明显增高的 Linc - ROR,将肺癌细胞中的 Linc - ROR 敲除后细胞的增殖与侵袭明显延缓,对多西他赛的敏感度也显著增强,体内实验也得到了相同的结果。最终发现 Linc - ROR 可通过调控 miR - 145 的活性,上调其靶基因 FSCN1 的表达水平,促进了肺癌的增殖、转移及耐药性。上述研究结果表明,Linc - ROR 在肺癌的发展中起着致癌作用,有望成为肺癌新的治疗靶点及预后指标。

六、展 望

Linc - ROR 作为一种近年来新发现的非编码 RNA,已被证实在多种恶性肿瘤中异常表达,通过作为 miR - 124、miR - 138、miR - 145 等多种 miRNAs 的 ceRNAs 以及调控 PI₃K/AKT/mTOR、Wnt/ - catenin、MAPK/ERK 等多种信号通路的方式来影响癌症的增殖、侵袭、凋亡以及放疗、化疗耐药性等过程,并且在调节多能干细胞重编程方面发挥着独特的作用。但目前对于 Linc - ROR 的研究大多数局限于初级阶段,其在肿瘤中具体的生物学功能以及分子机制尚不十分明确,仍需进一步深入研究。相信随着生物技术的广泛应用、多相关学科的联合发展,Linc - ROR 有望成为肿瘤早期诊断、靶向治疗及预测转归的重要指标,为癌症的临床诊疗提供新思路。

参考文献

- Gu J, Li Y, Fan L, *et al.* Identification of aberrantly expressed long non - coding RNAs in stomach adenocarcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30): 49201 - 49216
- 张滕,刘芳腾,郭武华,等.长链非编码 RNA Linc00152 与恶性肿瘤发生、发展关系的研究进展 [J]. *山东医药*, 2017, 57(36): 110 - 112
- Pan Y, Li C, Chen J, *et al.* The emerging roles of long noncoding RNA ROR (lincRNA - ROR) and its possible mechanisms in human cancers [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(1 - 2): 219 - 229
- Wang S, Liu F, Deng J, *et al.* Long noncoding RNA ROR regulates proliferation, invasion, and stemness of gastric cancer stem cell [J]. *Cell Reprogram*, 2016, 18(5): 319 - 326
- Li C, Zhao Z, Zhou Z, *et al.* Linc - ROR confers gemcitabine resistance to pancreatic cancer cells via inducing autophagy and modulating the miR - 124/PTBP1/PKM2 axis [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, 78(6): 1199 - 1207
- Zhang HY, Liang F, Zhang JW, *et al.* Effects of long noncoding RNA - ROR on tamoxifen resistance of breast cancer cells by regula-

- ting microRNA - 205 [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2017, 79(2): 327 - 337
- Yang P, Yang Y, An W, *et al.* The long noncoding RNA - ROR promotes the resistance of radiotherapy for human colorectal cancer cells by targeting the p53/miR - 145 pathway [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 32(4): 837 - 845
- Wang L, Yang F, Jia LT, *et al.* Missing links in epithelial - Mesenchymal transition: long non - coding RNAs enter the arena [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(4): 1665 - 1680
- Zhang HD, Jiang LH, Sun DW, *et al.* CircRNA: a novel type of biomarker for cancer [J]. *Breast Cancer*, 2018, 25(1): 1 - 7
- Chen Y, Shen Z, Zhi Y, *et al.* Long non - coding RNA ROR promotes radioresistance in hepatocellular carcinoma cells by acting as a ceRNA for microRNA - 145 to regulate RAD18 expression [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2018, 645(1): 117 - 125
- Takahashi K, Yan IK, Kogure T, *et al.* Extracellular vesicle - mediated transfer of long non - coding RNA ROR modulates chemosensitivity in human hepatocellular cancer [J]. *FEBS Open Bio*, 2014, 4(9): 458 - 467
- Li H, Jiang X, Niu X. Long non - coding RNA reprogramming (ROR) promotes cell proliferation in colorectal cancer via affecting P53 [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23(2): 919 - 928
- Zhang A, Zhou N, Huang J, *et al.* The human long non - coding RNA - RoR is a p53 repressor in response to DNA damage [J]. *Cell Res*, 2013, 23(3): 340 - 350
- Zhou P, Sun L, Liu D, *et al.* Long non - coding RNA lincRNA - ROR promotes the progression of colon cancer and holds prognostic value by associating with miR - 145 [J]. *Pathol Oncol Res*, 2016, 22(4): 733 - 740
- Shang M, Wang X, Zhang Y, *et al.* LincRNA - ROR promotes metastasis and invasion of esophageal squamous cell carcinoma by regulating miR - 145/FSCN1 [J]. *Oncotargets Ther*, 2018, 11(1): 639 - 649
- Yang S, Huang FK, Huang J, *et al.* Molecular mechanism of fascin function in filopodial formation [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(1): 274 - 284
- Wang SH, Zhang MD, Wu XC, *et al.* Overexpression of LncRNA - ROR predicts a poor outcome in gallbladder cancer patients and promotes the tumor cells proliferation, migration, and invasion [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9): 12867 - 12875
- Zhan HX, Wang Y, Li C, *et al.* LincRNA - ROR promotes invasion, metastasis and tumor growth in pancreatic cancer through activating ZEB1 pathway [J]. *Cancer Lett*, 2016, 374(2): 261 - 271
- Gao S, Wang P, Hua Y, *et al.* ROR functions as a ceRNA to regulate Nanog expression by sponging miR - 145 and predicts poor prognosis in pancreatic cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(2): 1608 - 1618
- Chen YM, Liu Y, Wei HY, *et al.* Linc - ROR induces epithelial - mesenchymal transition and contributes to drug resistance and invasion of breast cancer cells [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(8): 10861 - 10870
- Peng WX, Huang JG, Yang L, *et al.* Linc - RoR promotes MAPK/ERK signaling and confers estrogen - independent growth of breast cancer [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 161
- Zhao T, Wu L, Li X, *et al.* Large intergenic non - coding RNA - ROR as a potential biomarker for the diagnosis and dynamic monitoring of breast cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2017, 20(2): 165 - 173
- Shi H, Pu J, Zhou XL, *et al.* Silencing long non - coding RNA ROR improves sensitivity of non - small - cell lung cancer to cisplatin resistance by inhibiting PI₃K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(5): 1010428317697568

(收稿日期:2018 - 10 - 09)

(修回日期:2018 - 10 - 24)