

长链非编码 RNA 与结肠癌发生、发展关系的研究进展

彭志浩 李玉明

摘 要 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是指长度超过 200 个核苷酸的一类 RNA 分子, 属于非编码 RNA 的一种, 其本身不能或仅能编码有限的蛋白, 但它们可以在转录水平或转录后水平调控基因表达, 从而影响机体的生物学过程, 如在转录沉默、转录激活、染色体修饰、核内运输等方面均具有重要的作用。目前对于 lncRNAs 的研究已取得一定进展, 但对于 lncRNAs 在结肠癌方面的研究仍处于初始阶段, 近年来研究发现在结肠癌中有很多异常表达的 lncRNA, 作为结肠癌的特异性生物学标志物在预后、诊断、甚至治疗效果预测等方面发挥了重要作用, 与结肠癌细胞的生长增殖、侵袭转移、凋亡及耐药等密切相关, 有望成为结肠癌早期诊断标志物及潜在治疗新靶点。本文就近年来与结肠癌相关 lncRNA 研究做一系统综述, 并简述这些 lncRNA 在结肠癌发展过程中的作用机制及研究价值。

关键词 结肠癌 长链非编码 RNA lncRNA

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.03.003

近年来结肠癌发生率呈逐年上升且呈年轻化趋势。最新研究表明结肠癌已成为全球癌症相关死亡的第 2 位主要病因, 尤其是在发展中国家, 对人类健康及生存造成了严重威胁^[1]。结肠癌的发展是一个多因素介导的复杂生物学过程, 与社会环境、生活方式、遗传因素等密切相关。随着研究的不断深入, lncRNA 在结肠癌中的作用得到了广泛关注, 与肿瘤的生长增殖、侵袭转移等病理生理过程密切相关, 严重影响患者的生存与预后, 有望成为结肠癌诊断标志物以及潜在的治疗新靶点。

一、lncRNA 的概述

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是指长度超过 200 个核苷酸的 RNA 分子, 属于非编码 RNA 的一种, 其本身并不具备蛋白编码功能^[2]。根据与已知功能的其他 DNA 元素的关系可以分为增强子相关 RNA (enhancer-associated RNA)、启动子相关 RNA (promoter-associated long RNA)、上游反义 RNA (upstream antisense RNA) 等; 从其遗传角度来讲又可以分为正义 lncRNA (sense lncRNA)、反义 lncRNA (antisense lncRNA)、双向 lncRNA (bidirectional lncRNA)、内含子 lncRNA (intronic lncRNA)、基因间 lncRNA (intergenic lncRNA) 等^[3]。lncRNA 可通过调控蛋白编码基因的表达、控制表观遗传调控以及

调节选择性剪接过程在各种细胞生物学过程中发挥关键作用, 包括细胞生长、发育及癌细胞侵袭、转移等过程^[4,5]。如 lncRNA 可通过影响邻近基因(顺式)或影响其他染色体上的远端基因(反式)来调控蛋白编码基因的表达^[6]。此外, 在上游启动子区的 lncRNA 还可通过影响下游基因表达或作为 microRNA 或小干扰 RNA (siRNA) 的前体来调控基因表达过程^[7]。

二、与结肠癌相关的 lncRNA

结肠癌是世界范围内最常见的癌症之一, 复发和转移是导致结肠癌患者生存预后差的主导因素, 也是结肠癌患者致死的重要原因。肿瘤的发生、发展涉及多种病理生理学过程: (1) 上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT): 指上皮细胞向间充质细胞转化, 并获得迁移能力的过程^[8]。EMT 是机体生长发育的基本过程, 与机体伤口愈合和组织再生有关, 同时也是一些上皮细胞发生恶变的基础, 当细胞表型由上皮细胞向间质细胞转变时, 基因表达会导致细胞骨架重组, 使其向间质表型转化, 从而增强其侵袭、转移能力^[9]。(2) 细胞外基质的降解: 细胞外基质是分布在细胞周围的一些高分子所形成的复杂网状结构, 主要有多糖和蛋白质构成, 是防止肿瘤侵袭转移的天然屏障。研究发现肿瘤的侵袭、转移可诱导产生基质金属蛋白酶 (MMPs), MMPs 是一种蛋白水解酶, 可水解细胞外基质除多糖外的几乎所有蛋白成分。张慧忠^[10]对 65 例食管癌患者进行研究, 发现 MMP-2 在低、中分化组阳性率明显高于高分化组, 且与淋巴结转移密切相关。(3) 失巢凋亡抗性:

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

失巢凋亡指细胞与细胞外基质脱离后从而发生的一种程序性死亡,是正常的生物学过程。而失巢凋亡抗性可保护细胞脱离细胞外基质后仍可以存活,是恶性肿瘤发生侵袭、转移的基础^[11]。(4)血管生成拟态:指在肿瘤发展过程中为了满足自身血供,通过自身改变或细胞外基质重塑从而形成的一种类似于血管的功能通道,为肿瘤生长发育提供营养。研究表明与缺乏充分血管化的肿瘤比较,高度血管化的肿瘤侵袭及转移能力更强^[12]。(5)肿瘤免疫逃逸:指肿瘤细胞通过多种机制保护自己避免被免疫细胞识别、攻击,从而得以在体内生存和增殖的现象。如肿瘤细胞在受到免疫攻击时,可通过改变其表达的抗原或改变其性质来避免被免疫系统识别、攻击,降低了肿瘤细胞的免疫原性。此外,肿瘤细胞还可通过分泌一些免疫抑制因子来抑制机体内的免疫应答,创造免疫抑制的肿瘤微环境,使癌细胞可以在其中生存和生长^[13]。

1. lncSNHG15 与结肠癌:lncRNA SNHG15 是位于染色体 7p13 (又称 C7orf40、MYO1GUT 和 Linc - Myo1g) 的基因间 lncRNA。在 lncRNA SNHG15 的转录起始位点周围充满了活化组蛋白和 DNase I - 超敏感位点。有研究提供了 lncRNA SNHG15 阻断泛素 - 蛋白酶体途径 (UPP) 来稳定 Slug 的证据; Slug 是控制多种生物学过程的重要转录因子,在胚胎发育、癌症侵袭及转移等过程中发挥着重要作用^[14]。研究发现 lncRNA SNHG15 表达增强可以促进结肠癌细胞生长、增殖,与结肠癌患者预后不良密切相关,通过 RNA 免疫沉淀 (RIP) 试验发现 lncRNA SNHG15 含有 5 个锌指基序的 C 端结构域可与哺乳动物细胞中转录因子 Slug 相互作用,从而抑制它们的泛素化降解,揭示了 lncRNA SNHG15 可通过阻断泛素 - 蛋白酶体途径来抑制 Slug 降解,维持了 Slug 的稳定性^[15]。此外,最近的研究表明,与 lncRNA 转移相关的肺腺癌转录子 - 1 可通过沉默 miR - 140 导致 Slug 的表达上调诱发肺癌细胞上皮 - 间质转化,从而促进肺癌的侵袭、转移^[16]。因此 lncRNA SNHG15 作为 Slug 的稳定剂可能在结肠癌诱发 EMT 的调控过程中发挥重要作用,对结肠癌的早期诊断及靶向治疗具有重要意义,有望成为结肠癌诊疗的新靶点。

2. Linc00659 与结肠癌:Linc00659 是近年来新发现的一种长链非编码 RNA 分子,与结肠癌生长、预后以及对化疗药物敏感度密切相关。研究发现, Linc00659 表达水平与结肠癌发展呈正相关,在大多数结肠癌细胞的细胞核和细胞质中均有表达,

Linc00659 可通过损害细胞周期进展抑制结肠癌细胞生长, Linc00659 敲除后结肠癌细胞中细胞周期蛋白 A₂、B₁、D₁、CDK4 和 E₂F₁ 及抗凋亡蛋白 Bcl - 2 和 p - Bad 的表达水平均明显下降,导致细胞 G₁ 期明显缩短。Linc00659 的表达水平降低除可诱导细胞凋亡外,还可增强结肠癌细胞对化疗药物敏感度, Linc00659 敲除后,给予奥沙利铂或 5 - FU 可明显降低结肠癌细胞活力,导致细胞周期分布的亚 G₁ 期显著延长,细胞凋亡数量明显增加^[17]。因此 Linc00659 可能作为结肠癌的生物标志物,并用于化学药物的辅助治疗。

3. lncRNA OCC - 1 与结肠癌:随着生物技术的不断发展,人们发现一些 lncRNA 不仅可以作为致癌基因在结肠癌发生、发展过程中起着重要的作用,同时也可以作为抑癌基因在结肠癌生长增殖、侵袭、转移及预后过程中发挥关键作用,如 OCC - 1 (又称 FRP、FSL1) 连同 APPL2、CASC18 和 NUA1 侧翼基因都位于 12q23.3 基因座中,该基因座被称为潜在癌症易感基因座^[18]。近年来研究发现 OCC - 1 在结肠癌中发挥肿瘤抑制作用,其表达水平与结肠癌 TNM 分期以及细胞生长、增殖密切相关。OCC - 1 通过与 HuR 相互作用来发挥其功能, HuR 是 Hu/ELAV 家族中普遍存在的成员,是 RNA 稳定性的正调控因子,可作用于靶点 mRNA,编码对细胞生长、血管生成、肿瘤发生、侵袭和转移具有重要意义的蛋白质,在肿瘤发生、发展过程中起重要作用^[19]。OCC - 1 通过与 HuR 结合,增强其与泛素 E₃ 连接酶 β - TrCP1 相互作用,导致 HuR 泛素化和降解,从而降低 HuR 及其靶基因 mRNAs 的水平,抑制细胞 G₀ ~ G₁ 和 G₁ ~ S 期细胞周期转换进而抑制细胞生长^[20]。因此 OCC - 1 可以延缓结肠癌的发展过程,具有重要科研价值。

4. H19 与结肠癌:H19 是一种常见的与癌症相关的 lncRNA,在许多恶性肿瘤中均有表达,如胃癌、乳腺癌、肝细胞癌和膀胱癌等,定位于 11p15.5,靠近胰岛素样生长因子 2 (IGF2) 基因,仅表达于母系遗传染色体。其主要作用是通过调控靶基因来增强体内癌细胞的侵袭转移能力。在结肠癌中, H19 在体外可调节肿瘤细胞侵袭、转移,在体内可促进肿瘤生长、增殖和肝转移;其主要是通过 H19 - miR - 138 - HMGA1 轴发挥其作用;过度表达的 H19 通过抑制癌组织中 miR - 138,使 HMGA1 的表达水平上调,从而促进结肠癌的侵袭、转移^[21]。此外, H19 还可作用于靶基因 miR - 675 促进人结直肠癌细胞生长增殖和

软琼脂菌落形成^[22]。H19 还可作为竞争性内源性 RNA (ceRNA) 来调控基因表达。ceRNA 是目前研究的热点, ceRNA 指 miRNA 可与 mRNA 结合导致基因沉默, 而 mRNA、lncRNA、circRNA 和 miRNA 等可以与 miRNA 结合来调控基因表达, 从而影响 miRNA 导致的基因沉默, 进而调控细胞的各项生物学功能, 这类分子便被称为 ceRNA。如 lncRNAH19 可作为 miR-138 和 miR-200a 的 ceRNA 与 miR-138 和 miR-200a 竞争性结合, 进而调控波形蛋白、ZEB1 和 ZEB2 的表达, 波形蛋白、ZEB1 和 ZEB2 又与 EMT 转化密切相关, 因此 lncRNAH19 作为 miR-138 和 miR-200a 的 ceRNA 在促进了结肠癌发展、诱导结肠癌细胞 EMT 转化过程中发挥了重大作用^[23]。这些发现均暗示着 H19 可作为结肠癌早期生物学标志物, 为结肠癌早期检测提供新的思路。

5. lncRNA AFAP1-AS1 和结肠癌: AFAP1-AS1 又称 LOC84740, 定位于 4p16.1, 最初在食管癌中被发现, 是 AFAP1 基因的反义 lncRNA 调控因子。AFAP1 可调节肌动蛋白丝的完整性, 并作为 Src 家族成员和其他信号蛋白与肌动蛋白丝的衔接蛋白^[24]。研究发现, AFAP1-AS1 与结肠癌侵袭、转移及患者生存预后密切相关, Bo 等^[25]研究发现, AFAP1-AS1 敲除后通过调控肌动蛋白-细胞角蛋白信号通路可抑制结肠癌进展。此外 AFAP1-AS1 还参与了结肠癌的上皮-间质转化过程, 沉默 AFAP1-AS1 后导致 E-钙黏蛋白表达上调, β -连环蛋白和波形蛋白表达降低, 从而导致细胞黏附增加, 活动能力降低, 抑制结肠癌细胞侵袭、转移。随着进一步研究, AFAP1-AS1 和其所在的信号通路可能对结肠癌患者的靶向治疗具有重要意义。

6. lncRNA CYTOR 和结肠癌: lncRNA CYTOR, 也称为 Linc00152, 定位于 2p11.2, 在促进结肠癌侵袭和转移、诱导结肠癌细胞 EMT 转化过程中发挥着至关重要的作用。研究表明 CYTOR 与 Wnt/ β -连环蛋白信号通路之间的正反馈环可促进结肠癌转移, CYTOR 可与细胞质 β -钙黏蛋白结合抑制酪蛋白激酶 1 (CK1) 诱导的 β -连环蛋白磷酸化, 使其聚集并转移到细胞核。反过来讲, β -连环蛋白/T 细胞因子复合物增强了 CYTOR 在细胞核内的转录活性, 从而形成一个正反馈回路。此外, CYTOR 还可诱导结肠癌细胞中 EMT 的转化, 通过 Western blot 法检测发现, 在结肠癌中 CYTOR 过表达可导致细胞表面 E-钙黏蛋白表达降低, 以及 β -连环蛋白和波形蛋白表

达增加。还有一些其他 lncRNA 也可通过促进某些蛋白磷酸化从而来调控基因表达。如 lncRNA FAL1 在 200 ~ 400bp 处可与信号转导及转录激活因子 3 (STAT3) 相互作用导致 STAT3 磷酸化, 从而促进结肠癌的生长、增殖。因此, CYTOR 可作为经典 Wnt/ β -连环蛋白信号通路的一个新的调控因子, 也是结肠癌抗转移治疗的一个新的潜在靶点。

三、展 望

目前 lncRNA 已成为临床医学研究中新兴的热点分子, 引起了人们的广泛关注, lncRNA 可通过不同的分子生物学机制调控编码基因的表达, 参与疾病相关信号通路, 在包括癌症在内的多种疾病中发挥重要作用, 并逐渐揭示了其在临床方面的应用价值。尽管目前对于 lncRNA 的研究已取得极大进展, 但大多数 lncRNA 在结肠癌中具体的生物学功能以及分子机制尚不十分明确, 对于与结肠癌相关 lncRNA 的研究仍处于初级阶段, 相信随着人们的进一步研究, lncRNA 在结肠癌中的生物学特点及发病机制将会越来越清晰, 有望成为结肠癌早期诊断和临床预后的新型生物学标志物, 为结肠癌的早期检测及治疗提供新思路。

参考文献

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424
- 张润冬, 艾开兴. 长链非编码 RNA 在胰腺癌中的作用机制与临床应用价值[J]. 外科研究与新技术, 2018, 7(2): 122-126
- St Laurent G, Wahlestedt C, Kapranov P, *et al.* The landscape of long noncoding RNA classification[J]. Trends Genet, 2015, 31(5): 239-251
- Ma H, Hao Y, Dong X, *et al.* Molecular mechanisms and function prediction of long noncoding RNA[J]. Sci World J, 2012, 2012: 541786
- Spizzo R, Almeida MI, Colombatti A, *et al.* Long non-coding RNAs and cancer: a new frontier of translational research? [J]. Oncogene, 2012, 31(43): 4577-4587
- Chen F, Li Y, Feng Y, *et al.* Evaluation of antimetastatic effect of lncRNA-ATB siRNA delivered using ultrasound-targeted microbubble destruction[J]. DNA Cell Biol, 2016, 35(8): 393-397
- Deng H, Wang JM, Li M, *et al.* Long non-coding RNAs: New biomarkers for prognosis and diagnosis of colon cancer[J]. Tumour Biol, 2017, 39(6): 1010428317706332
- Yeung KT, Yang J. Epithelial-mesenchymal transition in tumor metastasis[J]. Mol Oncol, 2017, 11(1): 28-39
- Dominguez C, David JM, Palena C. Epithelial-mesenchymal transition and inflammation at the site of the primary tumor[J]. Semin Cancer Biol, 2017, 47: 177-184

(转第 4 页)

两组受试者进行了转录组学的检测,提示3餐摄食组出现了生物钟基因 *ROR α* 、*SIRT1* 的高表达,从表观遗传学的角度对生活方式、膳食干预对代谢的影响进行了诠释。

三、展 望

目前,尽管糖尿病药物及治疗策略不断推陈出新,医学营养治疗以及长期规范的生活方式管理仍是糖尿病治疗的基础。糖尿病营养研究方面,基于人群的强化生活方式干预以及长期前瞻性的随访显示了其对于社区高危人群的显著改善作用,提示在社区基础医疗中贯彻强化生活方式及体重管理将在糖尿病长期治疗及改善预后方面占据越来越重要的地位,具有重要的卫生经济学意义。此外,生物钟节律与生活方式干预对于改善糖尿病患者代谢紊乱的相关研究仍是热点。精准医学的兴起使得更多的研究越来越趋于与组学检测等多元的评价手段相结合,提供更多视角的机制研究。今后生物信息技术、组学技术、菌群研究、遗传研究的将更广泛地应用于 T2DM 的研究中,帮助患者进行更精准的营养代谢评价、风险分层、个体化干预。

参考文献

- American Diabetes Association. Improving care and promoting health in populations: standards of medical care in diabetes – 2019 [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42 (Suppl 1): S7 – S12
- Association AD. Summary of revisions: standards of medical care in diabetes – 2019 [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42 (Suppl 1): S4 – S6
- 张惠忠. 食管鳞癌基质金属蛋白酶及其抑制因子的表达和意义 [D]. 广州:中山大学中山医学院, 2000
- Paoli P, Giannoni E, Chiarugi P. Anoikis molecular pathways and its role in cancer progression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833 (12): 3481 – 3498
- Lin MT, Song HJ, Ding XY. Long non – coding RNAs involved in metastasis of gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24 (33): 3724 – 3737
- Pancione M, Giordano G, Remo A, *et al.* Immune escape mechanisms in colorectal cancer pathogenesis and liver metastasis [J]. *J Immunol Res*, 2014, 2014: 686879
- Chang TH, Tsai MF, Gow CH, *et al.* Upregulation of microRNA – 137 expression by Slug promotes tumor invasion and metastasis of non – small cell lung cancer cells through suppression of TFAP2C [J]. *Cancer Lett*, 2017, 402: 190 – 202
- Jiang H, Li T, Qu Y, *et al.* Long non – coding RNA SNHG15 interacts with and stabilizes transcription factor Slug and promotes colon cancer progression [J]. *Cancer Lett*, 2018, 425: 78 – 87
- Sun L, Sun P, Zhou QY, *et al.* Long noncoding RNA MALAT1 promotes uveal melanoma cell growth and invasion by silencing of miR – 140 [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8 (9): 3939 – 3946
- Tsai KW, Lo YH, Liu H, *et al.* Linc00659, a long noncoding RNA, acts as novel oncogene in regulating cancer cell growth in colorectal cancer [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17 (1): 72

- American Diabetes Association. Obesity management for the treatment of type 2 diabetes: standards of medical care in diabetes – 2019 [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42 (Suppl 1): S81 – S89
- American Diabetes Association. Lifestyle management: standards of medical care in diabetes – 2019 [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42 (Suppl 1): S46 – S60
- American Diabetes Association. Management of diabetes in pregnancy: standards of medical care in diabetes – 2019 [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42 (Suppl 1): S165 – S172
- Lean MEJ, Leslie WS, Barnes AC, *et al.* Durability of a primary care – led weight – management intervention for remission of type 2 diabetes: 2 – year results of the DiRECT open – label, cluster – randomised trial [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7 (5): 344 – 355
- Taylor R, Leslie WS, Barnes AC, *et al.* Clinical and metabolic features of the randomised controlled diabetes remission clinical trial (DiRECT) cohort [J]. *Diabetologia*, 2018, 61 (3): 589 – 598
- Lean ME, Leslie WS, Barnes AC, *et al.* Primary care – led weight management for remission of type 2 diabetes (DiRECT): an open – label, cluster – randomised trial [J]. *Lancet*, 2018, 391 (10120): 541 – 551
- Gong Q, Zhang P, Wang J, *et al.* Morbidity and mortality after lifestyle intervention for people with impaired glucose tolerance: 30 – year results of the Da Qing diabetes prevention outcome study [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7 (6): 452 – 461
- Ravussin E, Beyl RA, Poggiogalle E, *et al.* Early time – restricted feeding reduces appetite and increases fat oxidation but does not affect energy expenditure in humans [J]. *Obesity (Silver Spring, Md)*, 2019, 27 (8): 1244 – 1254
- Jakubowicz D, Landau Z, Tsameret S, *et al.* Reduction in glycated hemoglobin and daily insulin dose alongside circadian clock upregulation in patients with type 2 diabetes consuming a three – meal diet: A randomized clinical trial [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42 (12): 2171 – 2180

(收稿日期:2019 – 12 – 24)

(修回日期:2019 – 12 – 27)

(接第 11 页)

- Han D, Wang M, Ma N, *et al.* Long noncoding RNAs: novel players in colorectal cancer [J]. *Cancer Lett*, 2015, 361 (1): 13 – 21
- Wu M, Tong CWS, Yan W, *et al.* The RNA binding protein HuR: a promising drug target for anticancer therapy [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2019, 19 (5): 382 – 399
- Lan Y, Xiao X, He Z, *et al.* Long noncoding RNA OCC – 1 suppresses cell growth through destabilizing HuR protein in colorectal cancer [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46 (11): 5809 – 5821
- Yang Q, Wang X, Tang C, *et al.* H19 promotes the migration and invasion of colon cancer by sponging miR – 138 to upregulate the expression of HMGA1 [J]. *Int J Oncol*, 2017, 50 (5): 1801 – 1809
- Tsang WP, Ng EK, Ng SS, *et al.* Oncofetal H19 – derived miR – 675 regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31 (3): 350 – 358
- Liang WC, Fu WM, Wong CW, *et al.* The lncRNA H19 promotes epithelial to mesenchymal transition by functioning as miRNA sponges in colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (26): 22513 – 22525
- Baisden JM, Qian Y, Zot HM, *et al.* The actin filament – associated protein AFAP – 110 is an adaptor protein that modulates changes in actin filament integrity [J]. *Oncogene*, 2001, 20 (44): 6435 – 6447
- Bo H, Fan L, Li J, *et al.* High expression of lncRNA AFAP1 – AS1 promotes the progression of colon cancer and predicts poor prognosis [J]. *J Cancer*, 2018, 9 (24): 4677 – 4683

(收稿日期:2019 – 02 – 15)

(修回日期:2019 – 03 – 06)