

· 综述 ·

长链非编码 RNA 调控乳腺癌增殖、转移、耐药性及乳腺癌干细胞

刘翠翠^{1,2*} 王光学^{1*} 赵倩¹ 邓生琼¹ 孟令或^{1,2} 吕金辉^{1,3} 向振东¹
张楚怡¹ 甄丽晓¹ 俞作仁^{1,2}

【摘要】 长链非编码 RNA (lncRNA) 是不编码蛋白质的新型 RNA 分子,在表观遗传学、基因转录及转录后水平调控基因表达,并能够与蛋白质、核酸互相作用,参与多种生理和病理过程的调控。研究表明,lncRNA 在多种癌细胞异常表达,并在癌症的起始、发展、侵袭及转移等过程中发挥重要功能。乳腺癌发生、发展和转移等过程受到多基因、多因素的调控,不同 lncRNA 分子对乳腺癌的调控功能和作用机制各异。笔者回顾了 lncRNA 在乳腺癌中的最新研究进展,对 lncRNA 参与调控乳腺癌增殖、转移、耐药以及乳腺癌干细胞等多个环节分别讨论,并对 lncRNA 在乳腺癌早期诊断和靶向治疗等方面的应用前景和面临的挑战进行了展望和分析。

【关键词】 乳腺肿瘤; 细胞增殖; 肿瘤转移; 抗药性,肿瘤; RNA

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

随着人类基因组计划的完成,以及高通量基因分析技术包括深度测序和微阵列芯片的发展,发现人类基因组中 93% 以上的序列能够被转录,但有大约 2% 的基因序列用于功能性蛋白的编码^[1]。90% 以上基因转录本不编码蛋白,统称为非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA)^[2]。根据生物学功能,ncRNA 分为两大类:管家 ncRNA 和调控性 ncRNA。管家 ncRNA 包括 tRNA、rRNA、snRNA 和 snoRNA; 调控性 ncRNA 根据序列长度,可分为短链 ncRNA 和长链 ncRNA。短链 ncRNA 包括微小 RNA (microRNA, miRNA)、小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)、piwi 特异结合 RNA (piwi interacting RNA, piRNA) 和转录起始 RNA (transcription initiation RNA, tiRNA) 等,具有分子小、序列保守性高等特征。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA),其长度为 200 ~ 200 000 bp,具有序列保守性低、调控机制复杂多样等特征。其在表观遗传学、基因转录以及转录后等多层面调控基因表达,并与其他生物分子互相作用,参与多种生理和病理的调控过程^[3]。由于 lncRNA 数量多,结构多样,作用机制复杂,对 lncRNA 的认识尚处于起步阶段,大多数 lncRNA 的生物学功能还有待探索。

一、lncRNA 概述

由于缺乏开放阅读框和序列保守性,lncRNA 最初被认为是基因转录的“暗物质”,甚至被视作垃圾基因(junk gene),不具有生物学功能^[4]。近年来,研究表明,lncRNA 参与染色

体沉默、基因组印迹、组蛋白修饰、转录激活及干扰、核内蛋白转运等多种细胞过程,具有非常重要的生物学功能^[4-8]。

lncRNA 的转录合成方式多样,大多数 lncRNA 由 RNA 聚合酶 II 转录,具有 mRNA 的部分特征,如 5'端加帽、3'端多聚腺苷酸尾以及相似的剪切模式等。然而,研究发现在细胞中也有通过 RNA 聚合酶 III 转录产生的不含多聚腺苷酸尾的 lncRNA^[5]。人体细胞中,约有 40% 的 lncRNA 转录本不包括多聚腺苷酸尾^[6]。lncRNA 虽然序列保守性低,但多具有保守的二级结构、剪切方式及亚细胞定位。序列的特异性和结构的保守性表明 lncRNA 生物学功能的复杂多样性^[7-8]。根据转录本来源,lncRNA 可分为 5 类(图 1):(1)正义 lncRNA (sense lncRNA),由蛋白质编码基因的正义链转录产生;(2)反义 lncRNA (antisense lncRNA),由蛋白质编码基因的反义链转录产生;(3)基因内 lncRNA (intronic lncRNA),由蛋白质编码基因的内含子序列转录产生;(4)基因间 lncRNA (intergenic lncRNA),由两条蛋白质编码基因的间隔区转录产生;(5)双向 lncRNA (bi-directional lncRNA),其来源于蛋白质编码基因的两条反向互补链,通常转录起始位点间距小于 1 000 bp。

对 lncRNA 的认识尚处于起步阶段,大多数 lncRNA 的生物学功能还有待探索。根据目前已经证实的研究报道^[9-12],lncRNA 的作用机制主要有以下 6 种:(1)形成组蛋白修饰复合物,调控染色质结构和基因表达,如 HOX 转录反义 RNA (HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)使染色体组蛋白 H3K27 发生甲基化和组蛋白 H3K4 去甲基化,沉默或失活染色体相关基因,进而调控乳腺癌细胞转移;(2)作用于基因上游启动子区或增强子区域,形成增强子-启动子反馈调节机制,激活下游基因转录;(3)与靶基因转录本形成互补链,干扰 mRNA 的剪切,产生多种不同的剪切体;(4)与特定转录本结合,调控下游基因转录,例如,结肠癌相关转录本 2 (colon cancer associated transcript 2, CCAT2)与转录本

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2016.05.012

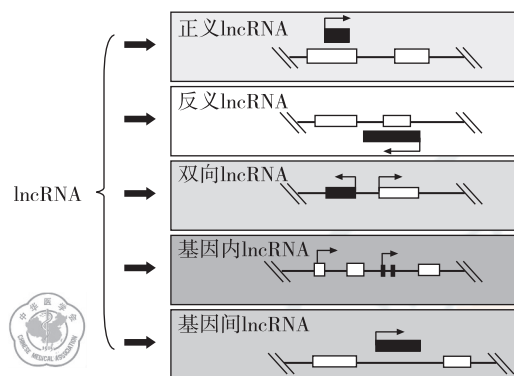
基金项目:国家自然科学基金资助项目(81172515,81572593)

作者单位:200120 上海,同济大学附属东方医院转化医学研究中心¹;
116044 大连医科大学基础医学院²;325000,温州医科大学基础医学院微生物学与免疫学教研室³

* 为本文共同第一作者

通信作者:俞作仁,Email: zuoren.yu@tongji.edu.cn

TCF7L2 结合,调控下游靶基因 c-myc 的表达,从而促进癌增殖和转移;(5)作为小分子 RNA(如 miRNA)、piRNA 的前体分子,如 H19 是 miR-675 的前体分子;(6)作为竞争性内源 RNA(competing endogenous RNAs, ceRNA),“诱捕”miRNA 或者生物小分子,令 miRNA 丧失与靶基因结合的能力,间接调控 mRNA 的表达,如生长阻滞特异性转录本 5(growth arrest-specific transcript 5, GAS5)竞争性捕获 miRNA-222,从而减弱 miRNA-222 对靶基因的表达抑制作用,在肝脏可通过上调 p27 的表达而抑制纤维化发生(图 2)。



注:□表示蛋白质编码基因;■表示 lncRNA 基因

图 1 长链非编码 RNA(lncRNA)分类

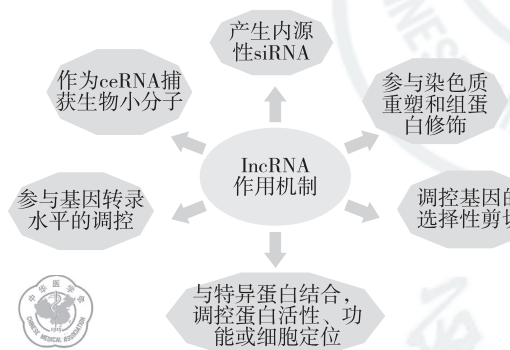


图 2 长链非编码 RNA 的功能和作用机制

二、lncRNA 对乳腺癌的调控

随着基因检测技术的发展和运用,越来越多 lncRNA 被发现在癌组织异常表达。lncRNA 分子能够特异调控癌症的发生和发展,具有癌症新型治疗靶点及生物标志物的潜力和应用前景。乳腺癌是女性发病率高的癌症,尤其在城市女性中发病率快速增长。虽然早发现、早治疗、早手术的策略使乳腺癌患者术后 5 年生存率提高,但乳腺癌的转移和复发依旧难以医治。Su 等^[13]收集了不同亚型的 658 例乳腺癌患者标本,筛查了 1 623 个 lncRNA 分子的表达特征,发现 4 类 lncRNA 与乳腺癌各亚型相关。表 1 为目前文献报道的在乳腺癌中发挥促癌或者抑癌功能的 lncRNA 分子。

1. lncRNA 调控乳腺癌细胞增殖

很多癌症的发生归因于癌细胞增殖失控、细胞自我修复能力下降及细胞凋亡过程异常。细胞周期调控因子在乳腺癌细胞表达异常,包括细胞周期蛋白(cyclin) D1、p21、p27、

表 1 乳腺癌相关的 lncRNA

lncRNA 名称	参考文献	基因库序列号	在乳腺癌中的表达
NEAT1	27	NR_028272.1	上调
MALAT1	33 ~ 35	NR_002819.2	上调
Hota1r	28 ~ 32	NR_047528.1	上调
H19	15 ~ 17	NR_002196.1	上调
LOC554202	25	NR_027054.1	上调
UCA1	18 ~ 19	NR_015379.3	上调
CCAT2	9	NR_109834.1	上调
ARA	38 ~ 39	BX537613.1	上调
LSINCT5	22	GU228577.2	上调
SOX2OT	44 ~ 45	NR_004053.3	上调
SRA1	23	NR_045586.1	上调
MA-linc1	39	NR_102741.1	上调
NBAT1	37	NR_034143.1	上调
SPRY4-IT1	24	NR_131221.1	上调
lin-ROR	26	NR_048536.1	上调
NKILA	36	NR_131157.1	下调
GAS5	20 ~ 21	NR_002578.2	下调
XIST	46	NR_001564.2	下调
MEG3	23	NR_046468.2	下调

注:lncRNA 为长链非编码 RNA

pRb 等,作为调控细胞周期 G₁/S 转化的最重要因子,cyclin D1 在部分乳腺癌组织表达异常升高^[14]。研究已经证实有以下几个重要的 lncRNA 分子参与乳腺癌细胞增殖及凋亡调控。

H19,位于人染色体 11p15.5,是胰岛素样生长因子 2(insulin-like growth factor 2, IGF2)下游的相邻印迹基因,可反式调节 IGF2 的转录和翻译。H19 在膀胱癌、结肠癌、胰腺癌、胃癌和乳腺癌等多种癌组织特异高表达。乳腺癌 MDA-MB-231 细胞过表达 H19,能够明显促进细胞增殖;该细胞注射免疫缺陷型小鼠(SCID 小鼠),体内成瘤能力明显增强^[15]。在乳腺癌细胞 SK-BR3、T47D 等中,特异性敲低 H19 表达可以抑制癌细胞的体外克隆形成能力^[16]。H19 的表达及功能受多种转录本的调控。Ratajczak 等^[17]发现,转录本 E2F1 能够结合 H19 启动子区域,激活 H19 转录,促进细胞周期,特别是 G₁/S 期的转化。原癌基因 c-myc 也可结合在 H19 启动子区的 E-box 区域,激活 H19 转录,进而促进肿瘤发生。

尿道上皮癌相关因子 1(urothelial carcinoma-associated 1, UCA1)在人膀胱癌细胞中发现其表达上调,通过环磷酸腺苷效应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)经由 PI3K-Akt 通路调节细胞周期,促进癌细胞的增殖和转移^[18]。UCA1 在乳腺癌细胞表达升高。UCA1 通过和调节因子 hnRNP1 结合形成核糖核蛋白复合物(ribonucleoprotein complex),增加其稳定性。在正常细胞中 hnRNP1 能够促进 p27(Kip 1)的转录,调控细胞周期,抑制细胞过度增殖,主要表现为抑制细胞周期 G₁ 期到 S 期的进程。UCA1 和 p27 mRNA 与 hnRNP1 竞争性结合,正常生理状态下,这种竞争性保持一种动态平衡。在乳腺癌组织中,UCA1 表达上调打破这种平衡,UCA1 竞争性结合 hnRNP1,从而削

弱后者对 p27 的转录调控,促进乳腺癌细胞周期,促进癌细胞增殖^[19],提示 UCA1 可作为乳腺癌前期诊断的生物分子标志物。

GAS5 是从 NIH-3T3 细胞中分离得到的 lncRNA,与细胞凋亡相关。在导管性乳腺癌组织中,GAS5 的表达相对于正常乳腺上皮组织明显降低,提示其抑癌功能。在乳腺癌 MCF-7 细胞中,过表达 GAS5 可使癌细胞对凋亡诱导物紫外线或地塞米松更加敏感,促进癌细胞凋亡。GAS5 通过两种途径抑制肿瘤细胞增殖^[20]。GAS5 3'端能够结合糖皮质激素受体应答元件,竞争性抑制糖皮质激素受体下游靶基因 cIAP2、PEPCK 和 G6Pase 等的转录,促进凋亡;GAS5 转录本含有一个保守性 snoRNA,可以促进三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)对凋亡的敏感性,其低表达与乳腺癌恶性程度及不良预后密切相关^[21]。

长链张力诱导性非编码转录本(long stress-induced non-coding transcript, LSINCT)最初从烟草致癌物亚硝胺暴露下的肺支气管上皮细胞中发现的一类 lncRNA。在多种乳腺癌细胞系中,LSINCT 表达明显升高。后续研究发现,LSINCT5 在乳腺癌患者癌组织中表达量显著性高于正常组织,利用反义寡核苷酸特异性敲低 LSINCT5 表达,能够降低 RNA-蛋白复合小体(nuclear paraspeckle)形成因子 PSPC1 (paraspeckle component 1)和 lncRNA NEAT-1 的转录水平,抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖,抑制肿瘤发生^[22]。趋化因子受体 4 (CXCR4)已经被证实调控乳腺癌形成、侵袭和转移。在乳腺癌细胞中,抑制 LSINCT5 表达可以显著降低 CXCR4 的表达,提示 LSINCT5 可能通过 CXCR4 参与乳腺癌的调控。

除上述 lncRNA 分子之外,越来越多的 lncRNA,包括 SRA1、MEG3、SPRY4-IT1、LOC554202、lin-ROR 等,也相继被发现,在乳腺癌组织和癌细胞中异常表达,并调控乳腺癌细胞增殖,进而影响乳腺癌发生和发展^[23-27]。

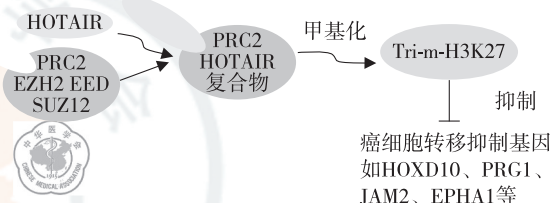
2. lncRNA 调控乳腺癌细胞转移

非转移原发性的乳腺癌如果早期发现,及时手术治疗后,5 年和 10 年生存率很好,但对于转移性、继发性及复发的乳腺癌,因为癌细胞的转移,单纯的手术治疗不能抑制癌细胞的扩散和肿瘤再生。即使化疗和放射治疗,对转移性乳腺癌的疗效也有限。癌细胞转移是危及乳腺癌患者生命的最主要原因。筛选能够早期预测乳腺癌细胞转移的生物标志物,以及寻找能够抑制乳腺癌细胞转移的治疗手段或分子靶点,具有重要的临床价值和社会意义。lncRNA 参与乳腺癌细胞转移,已经被广泛证实。

HOTAIR 在乳腺癌细胞中表达上调,与癌症的分期、转移以及患者生存率密切相关^[28]。Gupta 等^[29]发现 HOTAIR 在转移性乳腺癌中的表达量比正常乳腺组织高,提示 HOTAIR 具有转移性乳腺癌诊断标志物的潜力。研究发现,HOTAIR 能够通过提高配体非依赖性 ER 活性,提高 ER 阳性乳腺癌患者对化疗药他莫昔芬(tamoxifen)的耐药性^[30]。

Gupta 等^[29]的体外研究结果表明,在乳腺癌细胞 MCF-7、SK-BR3 和 MDA-MB-231 中过表达 HOTAIR,能够促进细胞的侵袭能力;相反,沉默内源性 HOTAIR 表达,细胞侵袭能力减弱,提示 HOTAIR 的异常表达可能和乳腺癌转移有关。体

内试验表明,小鼠移植过表达 HOTAIR 的 MDA-MB-231 细胞,能使其肺转移率提高 10 倍;尾静脉注射无特异性肺转移能力的 SK-BR3 细胞,80% 的小鼠发生肺转移。这些结果均表明 HOTAIR 与乳腺癌肺转移紧密相关^[29]。HOTAIR 介导的乳腺癌转移调控,是通过与 PRC2 复合体结合,促进 H3K27 甲基化,进而抑制下游基因表达(如 HOXD10、PRG1、JAM2 和 EPHA1 等,图 3)。HOTAIR 3'端结构域结合 PRC2 复合体并将其定位到 HoxD 位点,同时 3'端结构域结合赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1 (H3K4me2-specific-LSD1 demethylase)复合物,把 2 个表观修饰的酶结合在一起,使该处染色体上组蛋白 H3K27 发生甲基化和组蛋白 H3K4 去甲基化,从而使染色质结构变得紧密,进而导致靶基因沉默^[31]。HOTAIR 还能够促进抑癌基因 PTEN 的甲基化修饰,从而导致 PTEN 失活,进而促进肿瘤发生和发展^[32]。



注:HOTAIR 为长链非编码 RNA;PRC2 为转录因子;EZH2 为 zeste 同源蛋白 2 的增强子;SUZ12 和 EED 为多梳蛋白;Tri-m-H3K27 为 K27 三甲基化组蛋白

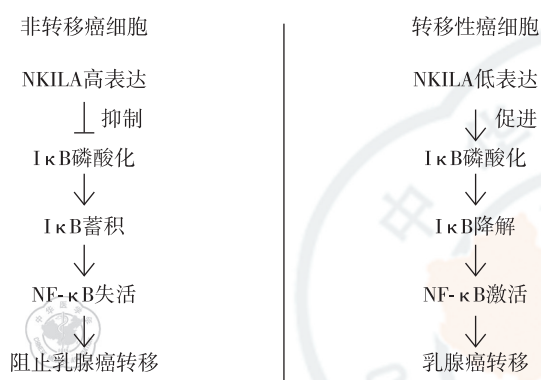
图 3 HOTAIR 促进乳腺癌转移的机制

转移相关性肺腺癌转录本 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 也叫 NEAT2,是在非小细胞肺癌(non small-cell lung cancer, NSCLC)患者中发现的与癌转移相关的 lncRNA。研究发现,MALAT1 在很多实体肿瘤中特异性高表达,并与癌症转移和复发相关;如 MALAT1 高表达的肝癌患者肝移植手术后,癌复发率明显高于对照组^[33]。高通量深度测序显示,在乳腺浸润性小叶癌患者中,MALAT1 的转录水平明显升高。高浓度雌二醇能够抑制乳腺癌细胞中 MALAT1 的表达,抑制癌细胞增殖、转移和侵袭能力^[33]。研究报道,在乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 MCF-7 中,敲低 MALAT1 能够影响 PI3K-AKT 信号通路,促进癌细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),提示 MALAT1 在乳腺癌细胞的调控具有多层面的复杂机制^[34]。

NF- κ B 交互作用性长链非编码 RNA (NF- κ B interacting lncRNA, NKILA) 是由 Liu 等^[35]从乳腺癌细胞中筛选出的一个癌转移相关 lncRNA,是一个新发现的抑癌 lncRNA,通过 RNA 原位杂交技术发现其定位在细胞质。炎症因子通过 NF- κ B 信号通路促进 NKILA 异常高表达,MDA-MB-231 细胞经 TNF- α 和 IL-1 β 等炎症因子刺激后,NKILA 表达量比对照组高 12 倍之多^[35]。NKILA 是 NF- κ B 信号通路的一个负性调控因子,在低转移性癌细胞 MCF-7、ZR-75-1、T-47D、MDA-MB-453 和 BT-474 中高表达,而在 SK-BR3、BT-549、MDA-MB-436 和 MDA-MB-231 高转移性癌细胞中低表达^[35]。体外实验表明,在 MDA-MB-231 细胞中过表达

NKILA 可以诱导细胞凋亡,减弱癌细胞侵袭和转移能力^[35]。乳腺癌组织标本检测显示,高转移性癌组织及浸润性导管癌组织的 NKILA 表达水平明显降低^[35]。

κ B 抑制剂 (inhibitor of kappa B, I κ B) 是 NF- κ B 的抑制物,促使其降解,阻滞乳腺癌转移, NKILA 与 NF- κ B/ I κ B 形成三元复合体调控乳腺癌的转移。NKILA 通过与 p65 结合参与调控 NF- κ B/ I κ B 复合体形成, NKILA 的发卡结构与 p65 的两个不同位点结合,稳定 NF- κ B/ I κ B 复合体,同时 NKILA 的 1 121 ~ 1 216 nt 区域与 I κ B 结合,遮蔽 I κ B 的磷酸化位点,直接抑制 I κ B 磷酸化,从而抑制 NF- κ B 介导的乳腺癌转移(图 4)。



注: NF- κ B 为核因子 NF- κ B, I κ B 为 κ B 抑制剂, NKILA 为 NF- κ B 交互作用性长链非编码 RNA

图 4 NKILA 抑制乳腺癌转移的分子机制

NBAT1 是早期在神经母细胞瘤中发现的抑癌 lncRNA^[36]。Hu 等^[37]最近发现高转移性乳腺癌患者中, NBAT1 表达明显低于正常乳腺组织。NBAT1 在 MDA-MB-231、MDA-MB-436 和 BT-549 等高侵袭性乳腺癌细胞中的表达显著低于低侵袭性乳腺癌细胞 MCF-7、SK-BR3 等。MDA-MB-231 细胞中过表达 NBAT1 可抑制癌细胞的侵袭和迁移能力。NBAT1 可与 polycomb 抑制复合体 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2) 成员 EZH2 (enhancer of zeste homolog 2) 蛋白结合,通过调控 Wnt 信号通路抑制剂 Dickkopf 相关性蛋白 1 (DKK1) 的表达,进而抑制乳腺癌的转移和侵袭。

3. lncRNA 调控乳腺癌细胞耐药性

原位乳腺癌患者术后 5 年和 10 年生存率高,归功于癌症早期检测方法的提高、治疗方法的改进以及新型药物的使用。然而,化疗药物的广泛使用,在抑制癌细胞的同时,也诱导了乳腺癌细胞耐药性的产生。lncRNA 参与调控乳腺癌细胞对化疗药物的敏感性, HOTAIR 降低 ER 阳性乳腺癌患者对他莫昔芬的敏感性。

多柔比星 (doxorubicin) 是用于治疗乳腺癌等多种癌症的广谱性化疗药,长期使用多柔比星会导致癌细胞获得耐药性,对多柔比星的敏感性降低。Jiang 等^[38]研究发现,在耐多柔比星的乳腺癌细胞株 MCF-7/ADR 和耐多柔比星的肝癌细胞株 HepG2/ADR 中,部分 lncRNA 表达量异常升高,特异性敲低 MCF-7/ADR 细胞的 ARA,可部分恢复其对多柔比星的敏感性,并能促进癌细胞凋亡,使细胞周期停滞在

G₂/M 期。

有丝分裂相关性长链非编码 RNA 1 (mitosis-associated long intergenic non-coding RNA 1, MA-linc1) 是参与细胞周期调控的 lncRNA。MA-linc1 通过顺式作用抑制其相邻抑癌基因 Pura 的表达,诱导细胞周期进入 M 期。Bida 等^[39]发现在乳腺癌和肺癌患者中, MA-linc1 的高表达与患者术后的低生存率存在正相关性,并与癌细胞耐受紫杉醇密切相关。紫杉醇是通过阻断细胞周期 M 期抑制细胞增殖的化疗药。特异性沉默 MA-linc1 在乳腺癌细胞的表达可以提高其对紫杉醇的敏感性,促进紫杉醇诱导的细胞凋亡,提示 MA-linc1 可作为紫杉醇治疗乳腺癌的增敏靶点。

4. lncRNA 调控乳腺癌干细胞

ncRNA, 尤其是 miRNA, 对乳腺癌干细胞自我更新和肿瘤再生等具有重要调控作用,如 miRNA-200 家族、let7 家族、miRNA-140 等^[40]。lncRNA 直接或间接作用于癌干细胞,调控癌症发生和发展。有些 lncRNA 含有干细胞相关 miRNA 的结合位点,可通过 miRNA 海绵 (miRNA sponge) 的作用机制,竞争性结合 miRNA,抑制其对干细胞的调控。lncRNA H19 序列存在多个潜在的 let7 家族结合位点,是 let7 的一个海绵吸附分子。在肌肉细胞中, H19 缺失可导致 let7 表达升高,促进干细胞分化^[41]。有些 lncRNA 分子能够与干性基因 OCT4、SOX2、KLF4、PcG 等相互作用,形成一种反馈环路,精确调控干细胞的增殖和分化^[42]。

lncRNA 对乳腺癌干细胞的调控研究尚处于认识阶段。已经证实,乳腺癌细胞中 CD24^{low} CD44⁺ Lin⁻ 细胞亚群,以及 ALDH⁺ 细胞亚群,均具有干细胞特征,100 个此类特征的细胞在小鼠体内移植就能够再生乳腺肿瘤。对乳腺癌干细胞 lncRNA 表达特征的筛查和鉴定,必将有助于揭秘乳腺癌起始的调控通路,为抑制乳腺癌复发和转移提供更多的潜在治疗靶点。Hou 等^[43]发现在乳腺癌细胞中,转录因子 linc-ROR 能够诱导 EMT,促进癌细胞的侵袭转移。在乳腺上皮细胞 MCF 10A 中过表达 linc-ROR 可显著提高具有肿瘤干细胞特征的 CD44⁺ CD24⁻ 细胞亚群的比例和体外克隆球 (mammosphere) 形成的数目,表明 linc-ROR 参与乳腺癌干细胞的自我更新和再生肿瘤调控。源自干性因子 SOX2 基因内含子序列的 lncRNA 和 SOX2OT (SOX2 overlapping transcript),对胚胎发生具有很强的时空特异性调控,在乳腺癌组织标本中 SOX2OT 和 SOX2 的表达呈正相关,SOX2OT 过表达能够诱导 SOX2 的表达^[44]。SOX2OT 尤其在 ER 阳性的乳腺癌组织表达更高,对类固醇激素有较高的敏感性^[45]。SOX2OT 是否通过影响 SOX2 表达调控乳腺癌干细胞再生肿瘤的能力,还有待进一步研究。

5. lncRNA 调控 TNBC

TNBC 是一种不表达 ER、PR 和 HER-2 的乳腺癌亚型,具有高侵袭性、恶性程度高、治疗棘手等特点。由于其不表达 ER、PR 和 HER-2,不能从内分泌治疗和抗 HER-2 的靶向治疗中受益,且远处转移风险大,基因分型特征、复发转移模式不明确,是国际上乳腺癌基础研究与临床诊治领域的焦点与难点。近期复旦大学肿瘤医院利用基因芯片技术筛选出在 TNBC 组织中特异性表达且与患者无复发生存显著相关

的一组 lncRNA;并构建了 mRNA-lncRNA 联合模型,准确地将 TNBC 患者区分为高复发风险组和低复发风险组,是 TNBC 患者的有力预后预测工具^[46]。Shen 等^[47]筛查了 1 758 个 lncRNA,发现 lncRNA XR_250621.1 在 TNBC 临床标本中显著高表达,lncRNA NONHSAT125629 在 TNBC 显著低表达。研究证明 TNBC 中 lncRNA 与 miRNA 互相作用,调控癌症的发生和发展,比如 lncRNA LOC554202 通过调控 miR-31-RhoA/WAVE3 途径^[48],lncRNA-ROR 通过 lncRNA-RoR-miR-145-ARF6 途径^[49],调控 TNBC。这些研究不仅证实了 lncRNA 作为 TNBC 预后标志物的可行性,也为 TNBC 患者个体化临床治疗和筛选新的治疗靶点提供了重要的实验依据。

三、结语

哺乳动物中有多达 30 000 多个 lncRNA 分子,但绝大多数 lncRNA 的生物学合成过程及生物学功能都未知。根据 lncRNA 权威数据库 lncRNAdb 信息,目前为止只有 197 个 lncRNA 分子的功能得以研究或证实,其中 118 个源自人类细胞或组织^[50]。可见,对 lncRNA 的研究和认识,尚属于最初的起步阶段。lncRNA 缺乏序列保守性,结构多样,作用机制复杂,生物合成过程缺乏保守的通路,生物学功能无法预测,所有这些问题使得 lncRNA 的研究进展缓慢。lncRNA 参与癌症调控,可作为癌症早期诊断生物标志物、新型基因治疗手段或者新的抑癌靶点,具备广阔的研发空间和临床应用前景。

如何突破 lncRNA 研究面临的瓶颈和挑战?一方面通过生物学功能研究结合结构信息学分析,确定 lncRNA 分子的功能性模序(motif),了解其他模序在 lncRNA 行使功能中发挥的作用,进而研究 lncRNA 分子的二级结构甚至三级结构,及其与 lncRNA 功能的对应性和相关性。对 lncRNA 的结构和功能的了解,必将有助于其作用机制的阐明及临床应用的加快。lncRNA 功能与其二级结构有关,破坏了二级结构,lncRNA 分子不能结合相关蛋白及靶基因,更不能行使正常功能。据此可以开辟一条 lncRNA 新的临床应用手段:利用小分子或者其他方法定向破坏 lncRNA 二级结构,从而间接抑制 lncRNA 功能。比如针对很多促癌功能的 lncRNA,如果靶向作用于其二级结构,不失为一种新型抑癌手段。另一方面,利用生物信息学分析,实现 lncRNA 靶基因或者靶通路的筛选或预测。如同 miRNA 研究发展史,lncRNA 一旦有了靶基因的预测手段,就能大大简化其研究工作,缩短研究周期,使其更接近临床应用和转化。

乳腺癌分子亚型多、影响因素多、病理诱因复杂,开展亚型特异的针对性研究,尤其是针对 TNBC 的 lncRNA 表达谱筛查和关键 lncRNA 分子的鉴定,必将为 TNBC 缺乏治疗性受体的局面带来曙光。利用 lncRNA 的调控功能,针对临床普遍存在的乳腺癌细胞耐药性问题展开研究,也将为解决临床实际问题,提高化疗药物对残余癌细胞的杀伤力,具有重要应用价值。此外,存在于循环系统中的循环 lncRNA 分子,与乳腺癌患者的分子分型、癌症分期、癌转移程度、治疗效果等的相关性研究,也将推动 lncRNA 分子作为乳腺癌早期诊断或者预后的潜在生物标志物的开发和应用。

参 考 文 献

- [1] Ponting CP, Belgard TG. Transcribed dark matter: meaning or myth? [J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(R2): R162-168.
- [2] Djebali S, Davis CA, Merkel A, et al. Landscape of transcription in human cells [J]. Nature, 2012, 489(7414): 101-108.
- [3] Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs [J]. Cell, 2009, 136(4): 642-655.
- [4] Wu Q, Kim YC, Lu J, et al. Poly A- transcripts expressed in HeLa cells [J]. PLoS One, 2008, 3(7): e2803.
- [5] Du Toit A. Non-coding RNA: RNA stability control by Pol II [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013, 14(3): 128.
- [6] Neculescu A, Soumilion M, Warnefors M, et al. The evolution of lncRNA repertoires and expression patterns in tetrapods [J]. Nature, 2014, 505(7485): 635-640.
- [7] Odom DT, Dowell RD, Jacobsen ES, et al. Tissue-specific transcriptional regulation has diverged significantly between human and mouse [J]. Nat Genet, 2007, 39(6): 730-732.
- [8] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs [J]. Cell, 2009, 136(4): 629-641.
- [9] Ling H, Spizzo R, Atlasi Y, et al. CCAT2, a novel noncoding RNA mapping to 8q24, underlies metastatic progression and chromosomal instability in colon cancer [J]. Genome Res, 2013, 23(9): 1446-1461.
- [10] Lee JT. Epigenetic regulation by long noncoding RNAs [J]. Science, 2012, 338(6113): 1435-1439.
- [11] Vennin C, Spruyt N, Dahmani F, et al. H19 non coding RNA-derived miR-675 enhances tumorigenesis and metastasis of breast cancer cells by downregulating c-Cbl and Cbl-b [J]. Oncotarget, 2015, 6(30): 29 209-29 223.
- [12] Yu F, Zheng J, Mao Y, et al. Long non-coding RNA growth arrest-specific transcript 5 (GAS5) inhibits liver fibrogenesis through a mechanism of competing endogenous RNA [J]. J Biol Chem, 2015, 290(47): 28 286-28 298.
- [13] Su X, Malouf GG, Chen Y, et al. Comprehensive analysis of long non-coding RNAs in human breast cancer clinical subtypes [J]. Oncotarget, 2014, 5(20): 9864-9876.
- [14] Yu Z, Baserga R, Chen L, et al. microRNA, cell cycle, and human breast cancer [J]. Am J Pathol, 2010, 176(3): 1058-1064.
- [15] Lottin S, Adriaenssens E, Dupressoir T, et al. Overexpression of an ectopic H19 gene enhances the tumorigenic properties of breast cancer cells [J]. Carcinogenesis, 2002, 23(11): 1885-1895.
- [16] Barsyte-Lovejoy D, Lau SK, Boutros PC, et al. The c-Myc oncogene directly induces the H19 noncoding RNA by allele-specific binding to potentiate tumorigenesis [J]. Cancer Res, 2006, 66(10): 5330-5337.
- [17] Ratajczak MZ. Igf2-H19, an imprinted tandem gene, is an important regulator of embryonic development, a guardian of proliferation of adult pluripotent stem cells, a regulator of longevity, and a 'passkey' to cancerogenesis [J]. Folia Histochem Cytobiol, 2012, 50(2): 171-179.
- [18] Yang C, Li X, Wang Y, et al. Long non-coding RNA UCA1 regulated cell cycle distribution via CREB through PI3-K dependent pathway in bladder carcinoma cells [J]. Gene, 2012, 496(1): 8-16.
- [19] Huang J, Zhou N, Watabe K, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes breast tumor growth by suppression of p27 (Kip1) [J]. Cell Death Dis, 2014, 5: e1008.
- [20] Pickard MR, Williams GT. Molecular and cellular mechanisms of

- action of tumour suppressor GAS5 lncRNA [J]. *Genes (Basel)*, 2015, 6(3): 484-499.
- [21] Pickard MR, Williams GT. Regulation of apoptosis by long non-coding RNA GAS5 in breast cancer cells: implications for chemotherapy [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 145(2): 359-370.
- [22] Silva JM, Boczek NJ, Berres MW, et al. LSINCT5 is overexpressed in breast and ovarian cancer and affects cellular proliferation [J]. *RNA Biol*, 2011, 8(3): 496-505.
- [23] Mondal T, Subhash S, Vaid R, et al. MEG3 long noncoding RNA regulates the TGF- β pathway genes through formation of RNA-DNA triplex structures [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7743.
- [24] Shi Y, Li J, Liu Y, et al. The long noncoding RNA SPRY4-IT1 increases the proliferation of human breast cancer cells by upregulating ZNF703 expression [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 51.
- [25] Shi Y, Lu J, Zhou J, et al. Long non-coding RNA Loc554202 regulates proliferation and migration in breast cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 446(2): 448-453.
- [26] Hou P, Zhao Y, Li Z, et al. lincRNA-ROR induces epithelial-to-mesenchymal transition and contributes to breast cancer tumorigenesis and metastasis [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1287.
- [27] Choudhry H, Albukhari A, Morotti M, et al. Tumor hypoxia induces nuclear paraspeckle formation through HIF-2 α dependent transcriptional activation of NEAT1 leading to cancer cell survival [J]. *Oncogene*, 2015, 34(34): 4482-4490.
- [28] Kogo R, Shimamura T, Mimori K, et al. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(20): 6320-6326.
- [29] Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis [J]. *Nature*, 2010, 464(7291): 1071-1076.
- [30] Bhan A, Hussain I, Ansari KI, et al. Antisense transcript long noncoding RNA (lncRNA) HOTAIR is transcriptionally induced by estradiol [J]. *J Mol Biol*, 2013, 425(19): 3707-3722.
- [31] Tsai MC, Manor O, Wan Y, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes [J]. *Science*, 2010, 329(5992): 689-693.
- [32] Li D, Feng J, Wu T, et al. Long intergenic noncoding RNA HOTAIR is overexpressed and regulates PTEN methylation in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(1): 64-70.
- [33] Zhao Z, Chen C, Liu Y, et al. 17 β -Estradiol treatment inhibits breast cell proliferation, migration and invasion by decreasing MALAT-1 RNA level [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 445(2): 388-393.
- [34] Xu S, Sui S, Zhang J, et al. Downregulation of long noncoding RNA MALAT1 induces epithelial-to-mesenchymal transition via the PI3K-AKT pathway in breast cancer [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 4881-4891.
- [35] Liu B, Sun L, Liu Q, et al. A cytoplasmic NF- κ B interacting long noncoding RNA blocks I κ B phosphorylation and suppresses breast cancer metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(3): 370-381.
- [36] Pandey GK, Mitra S, Subhash S, et al. The risk-associated long noncoding RNA NBAT-1 controls neuroblastoma progression by regulating cell proliferation and neuronal differentiation [J]. *Cancer Cell*, 2014, 26(5): 722-737.
- [37] Hu P, Chu J, Wu Y, et al. NBAT1 suppresses breast cancer metastasis by regulating DKK1 via PRC2 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 32 410-32 425.
- [38] Jiang M, Huang O, Xie Z, et al. A novel long non-coding RNA-ARA: adriamycin resistance-associated [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 87(2): 254-283.
- [39] Bida O, Gidoni M, Ideses D, et al. A novel mitosis-associated lncRNA, MA-linc1, is required for cell cycle progression and sensitizes cancer cells to Paclitaxel [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 27 880-27 890.
- [40] Li Q, Yao Y, Eades G, et al. Downregulation of miR-140 promotes cancer stem cell formation in basal-like early stage breast cancer [J]. *Oncogene*, 2014, 33(20): 2589-2600.
- [41] Kallen AN, Zhou XB, Xu J, et al. The imprinted H19 lncRNA antagonizes let-7 microRNAs [J]. *Mol Cell*, 2013, 52(1): 101-112.
- [42] Wang Y, Xu Z, Jiang J, et al. Endogenous miRNA sponge lincRNA-RoR regulates Oct4, Nanog, and Sox2 in human embryonic stem cell self-renewal [J]. *Dev Cell*, 2013, 25(1): 69-80.
- [43] Hou P, Zhao Y, Li Z, et al. lincRNA-ROR induces epithelial-to-mesenchymal transition and contributes to breast cancer tumorigenesis and metastasis [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1287.
- [44] Amaral PP, Neyt C, Wilkins SJ, et al. Complex architecture and regulated expression of the Sox2ot locus during vertebrate development [J]. *RNA*, 2009, 15(11): 2013-2027.
- [45] Askarian-Amiri ME, Seyfoddin V, Smart CE, et al. Emerging role of long non-coding RNA SOX2OT in SOX2 regulation in breast cancer [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102140.
- [46] Liu YR, Jiang YZ, Xu XE, et al. Comprehensive transcriptome analysis identifies novel molecular subtypes and subtype-specific RNAs of triple-negative breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2016, 18(1): 33.
- [47] Shen X, Xie B, Ma Z, et al. Identification of novel long non-coding RNAs in triple-negative breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(25): 21 730-21 739.
- [48] Augoff K, McCue B, Plow EF, et al. miR-31 and its host gene lncRNA LOC554202 are regulated by promoter hypermethylation in triple-negative breast cancer [J]. *Mol Cancer*, 2012, 11: 5.
- [49] Eades G, Wolfson B, Zhang Y, et al. lincRNA-RoR and miR-145 regulate invasion in triple-negative breast cancer via targeting ARF6 [J]. *Mol Cancer Res*, 2015, 13(2): 330-338.
- [50] Quek XC, Thomson DW, Maag JL, et al. lncRNAdb v2.0: expanding the reference database for functional long noncoding RNAs [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: D168-173.

(收稿日期:2015-10-15)

(本文编辑:刘军兰)

刘翠翠,王光学,赵倩,等.长链非编码 RNA 调控乳腺癌增殖、转移、耐药性及乳腺癌干细胞[J/CD].中华乳腺病杂志:电子版,2016,10(5):310-315.