

长链非编码 RNA 在膀胱癌中的研究进展

刘芯琦¹, 王宇²

(1. 陕西中医药大学第二临床医学院, 陕西 咸阳 712046;

2. 陕西中医药大学医学科研实验中心, 陕西 咸阳 712046)

摘要:长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一类转录长度超过 200 个核苷酸的 RNA, 在肿瘤细胞的基因表达调节中起着不可或缺的作用。LncRNA 与肿瘤的持续增殖、诱导血管生成、侵袭和转移、抵抗细胞死亡及无限复制密切相关。目前研究发现 lncRNA 在膀胱癌的肿瘤细胞周期及侵袭中发挥着重要作用, 全文就 lncRNA 在膀胱癌中的研究进展作一综述。

关键词:长链非编码 RNA; 膀胱肿瘤; UCA1

中图分类号:R737.14 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2019)08-0748-04

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2019.08.B014

Research Progress of Long Non-coding RNA in Bladder Cancer

LIU Xin-yu¹, WANG Yu²

(1. The Second Clinical Medical College of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China. 2. Medical Experimental Center of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

Abstract: Long non-coding RNA (lncRNA) is a type of RNA that has a transcriptional length of over 200 nucleotides, which plays an indispensable role in regulation of gene expression in tumor cells. LncRNA is closely related to the continuous proliferation, induction of angiogenesis, invasion and metastasis, resistance to cell death and infinite replication of tumor cells. Recent studies have found that lncRNA plays an important role in the cell cycle and invasion of bladder cancer. This article reviews the recent research progress of lncRNA in bladder cancer.

Subject words: long non-coding RNA; bladder carcinoma; UCA1

1 lncRNA 的生物学特征

在哺乳动物庞大的基因组中, lncRNA 为一类转录长度超过 200 个核苷酸, 因缺少开放性阅读框架而不编码蛋白质, 与 mRNA 类似, 它可具有 3' 多聚腺苷尾和 5' 帽子结构, 并存在可变剪切, 由 RNA 聚合酶 II 生成^[1]。人类基因组研究表明, 蛋白编码基因在人类基因组中的比例小于 3%, 其他大多数都被转录成非编码 RNA^[2]。

2 lncRNA 与肿瘤

lncRNA 在肿瘤组织中表达水平的上调或下调, 使其在不同的组织细胞中发挥不同的作用, 乳腺癌、大肠癌的相关基因 *HOTAIR* 及肺癌、前列腺癌和肝癌等致病相关的肺腺癌转移相关转录本 1(MALAT1) 等与 lncRNA 的致癌作用相关; 骨肉瘤、结肠癌相关的 LOC 285194 以及与前列腺癌、肾癌和结肠癌致病相关的生长停滞转录本 5(GAS5) 与 lncRNA 的抑癌作用相关^[3]。lncRNAs 在癌症中的失调表达标志着疾病进展的基因变化频谱的逐步完善, 并且可以作为各种肿瘤性疾病的独立预测因子。目前研究表明, lncRNA 与肿瘤的持续增殖、诱导血管生成、激活侵袭和转移、抵抗细胞死亡及无限复制有密切关系^[4]。随着肿瘤细胞中 lncRNA 的分子作用机制研究的不

基金项目:国家自然科学基金(81402344); 陕西省青年科技新星项目(2018KJXX-096); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2015JQ8308); 陕西省教育厅科学研究计划(自然科学专项)项目(16JK1221)

通信作者:王宇, 副教授, 博士; 陕西中医药大学医学科研实验中心, 陕西省咸阳市西咸新区西咸大道(712046); E-mail: wangyu541ban@sina.com

收稿日期:2018-03-08; **修回日期:**2018-05-16

断深入,lncRNA 将会为临床肿瘤诊断、靶向治疗及复发监测提供一定的依据。

3 lncRNA 与膀胱癌

膀胱癌是一种发生在膀胱黏膜上的常见的恶性肿瘤,发病率居我国泌尿生殖系肿瘤第1位,且复发率高,最常见的膀胱癌细胞来自膀胱内面黏膜表皮,即膀胱尿路上皮癌,约占膀胱癌患者总数的90%以上,男性发病率约为女性的2.5倍。近年通过基因测序、荧光定量PCR技术等的研究发现了多个与膀胱癌的发生、发展密切相关的lncRNA。

3.1 H19 与膀胱癌

H19是最早引起研究学者们关注的与膀胱癌相关的lncRNA,位于人染色体11p15.5区(基因ID:283120),长度约6.3kb,有6个外显子,仅从母系遗传的染色体中表达,且在哺乳动物的胚胎发育期高表达,出生后几乎不表达。与之相距90kb胰岛素样生长因子II(IGF2)只表达于父系遗传的染色体,H19与IGF2是一对交互印记基因在同一印记基因簇内,它们受H19基因上游4kb处差异性甲基化区或印记调控区调控^[5]。近年来的研究发现H19在各种肿瘤性疾病中异常表达,并认为其在肿瘤的细胞周期进程及侵袭转移中具有促进的作用。Liu等^[6]通过定量实时PCR及流式细胞术对膀胱癌组织中H19的产物miR-675的表达进行了检测,结果发现在膀胱癌组织中miR-675的表达水平与邻近的非癌组织或正常的膀胱组织相比明显升高,此外,在膀胱癌细胞系中也观察到增强的miR-675表达;在肿瘤细胞中,p53基因诱导G₁细胞周期的阻滞,免疫印迹分析显示miR-675抑制p53基因活化,降低了膀胱癌细胞Bax/bcl-2和cyclin D1表达的比例,研究结果提示miR-675在膀胱癌分子病因学中占有重要地位,同时在膀胱癌治疗中具有潜在的应用价值。上皮-间充质转化(EMT)被认为是包括膀胱癌在内的多种肿瘤的侵袭和转移的关键步骤,最近的研究表明,H19通过调节EMT和反向间质-上皮过渡(MET)与转移有关,Lv等^[7]用微阵列分析法筛选了膀胱癌(BC)的lncRNA和mRNA表达谱,结果发现H19和DNMT3B在膀胱癌组织和细胞中表现出较高的共表达,实验证明,H19可以直接与miR-29b-3p(miR-29b)结合,抑制靶DNMT3B的表达;同时上

调H19拮抗了膀胱癌细胞中miR-29b-3p介导的增殖、迁移和EMT抑制,首次证明H19可以作为miR-29b-3p的ceRNA(竞争性内源性RNA),并减轻对DNMT3B的抑制,从而导致了膀胱癌的EMT和转移。这项研究发现了一项膀胱癌进展的新机制,H19/miR-29b-3p/DNMT3B轴有可能作为膀胱癌治疗的又一靶点。

3.2 UCA1 与膀胱癌

尿路上皮癌相关因子(urothelial carcinoma associated antigen 1,UCA1),位于人染色体19p13.12区(基因ID:283120),长度约7.3kb,有3个外显子和2个内含子,是膀胱癌中特异性表达的长链非编码RNA。Wu等^[8]首次确定了人UCA1基因的启动子区,在该启动子上-400bp与-150bp之间的区域存在有抗凋亡转录因子Ets-2的结合位点,Ets-2通过与该结合位点的直接结合调节UCA1的启动子,使UCA1的表达升高,进而UCA1通过激活蛋白激酶B信号通路抑制膀胱癌细胞的凋亡。Luo等^[9]研究发现UCA1与细胞侵袭能力呈正相关,UCA1可以通过调节miR-143/HMGB1通路来促进膀胱癌细胞的入侵和EMT,这在膀胱癌的病理中具有重要的调控作用。Li等^[10]通过实时定量PCR,免疫印迹和免疫组织化学检测等方法证明了,UCA1通过UCA1/miR-195/ARL2轴在体外和体内增强了膀胱癌的线粒体功能和细胞活力,从而促进膀胱癌的增长。该信号网络的阐明为理解膀胱癌的分子病理学提供了更充分的理论依据,也为UCA1作为膀胱癌的潜在诊断和治疗靶点提供了理论依据。Li等^[11]最近研究发现了本临床广泛使用的糖尿病药物二甲双胍,通过调控UCA1抑制了癌细胞的有氧糖酵解,进而调节mtor-sta3-hk2信号通路,二甲双胍和lncRNA的这种新型联系可能会促进膀胱癌治疗策略的新靶点的发现。Wang等^[12]对膀胱癌患者的尿液进行了RT-PCR检验,检测出UCA1在尿路移行细胞癌中的总敏感度为82%、特异性为90%,均高于敏感度71%、特异性80%的NMP22(临床最常用的膀胱癌肿瘤标志物)。Zhen等^[13]通过对招募的6项独立的尿液UCA1水平调查研究的分析,表明尿液UCA1可为膀胱癌的非侵入性诊断标志物。膀胱镜与尿细胞学结合,增加了对膀胱癌的早期诊断价值,许多患者因在晚期被确诊,预后较差,由此提出UCA1可作为一个具有高度特异性及敏感性的潜在生物学指标成

为膀胱癌的診断的特异性靶点。

3.3 HOTAIR 与膀胱癌

HOX 转录物反义 RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)(基因 ID:100124700)属于反义 lncRNA, 位于人染色体 12q13.13 区, 含有 7 个外显子, 与 HOXC 基因共表达, 它通过结合赖氨酸特异性脱甲基酶 1 和多梳蛋白抑制性复合物 2 的 RNA 产物起作用, 并且作为支架将这些调节子组装在 HOXD 基因簇上, 从而促进 HOXD 的表观遗传学抑制。Yan 等^[14]研究报道显示, HOTAIR 在膀胱癌中上调, 可作为预测 Ta/T₁ 期膀胱癌复发的预后指标, 但对于膀胱癌中 HOTAIR 的具体机制还不清楚。Sun 等^[15]观察到在低级别非侵入性膀胱癌中上调 miR-205 可减缓细胞增殖, 在侵入性膀胱癌中 miR-205 的表达被沉默, 可促进膀胱癌的发展。Shang 等^[16]通过实时荧光定量 PCR、Kaplan-Meier 法、Log-rank 检验等方法对膀胱癌组织进行检测, 发现 HOTAIR 在膀胱移行细胞癌(TCC)组织和细胞系表达上调, HOTAIR 可作为 TCC 患者总生存的独立预后生物标志物, HOTAIR 的表达可调节人类 TCC 细胞对阿霉素的化疗敏感性。又有研究发现 HOTAIR-EZH2 复合物调节的基因可以有效区分非肿瘤, 复发和非复发性膀胱癌样本, EZH2 可调节 HOTAIR 的表达^[17]。Chen 等^[18]通过研究推翻了因 EZH2 在膀胱癌组织中上调, 而将其鉴定为不良预后的生物标志物的猜测, 并发现 EZH2 的促膀胱癌作用, 四环素可控的人工 microRNA-HOTAIR+EZH2, 抑制膀胱癌细胞的进展。

3.4 PVT1 与膀胱癌

PVT1 (基因 ID:252464)位于人染色体 8q24.21 区, 含有 9 个外显子, 长约 306.7kb。PVT1 基因的转录由肿瘤抑制因子 p53 通过其结合位点来调节, 并且其可通过调节原癌基因 MYC 的水平以促进肿瘤发生。研究显示 PVT1 的高表达和许多类型的癌症相关, 包括乳腺癌、卵巢癌、急性髓性白血病和霍奇金淋巴瘤等, 但对于膀胱癌中 PVT1 的具体机制还不清楚。2015 年 Zhuang 等^[19]报道了 PVT1 与膀胱癌的组织学分级和 TNM 分期高度相关, 同时通过四环素诱导开关控制的 shRNA 装置、CCK8、EdU 分析和细胞凋亡实验等技术, 发现 PVT1 具有促进膀胱癌发展的作用。化疗是一种预防膀胱癌转移和复发的有效方法, 但是常出现耐药性, 最新的研究发现 PVT1 在多药耐药膀胱癌组织及其细胞系中异常高

表达, 而通过抑制 PVT1 可调节 Wnt/ β -连环蛋白信号传导从而降低膀胱癌细胞增殖, 侵袭性和化疗耐药性^[20]。

3.5 TUG1 与膀胱癌

牛磺酸上调 1 (taurine up-regulated 1, TUG1)(基因 ID:55000), 位于人类染色体 22q12.2 区, 含有 4 个外显子。Han 等^[21]通过对 44 例膀胱尿路上皮癌患者进行测定发现, 与配对的正常尿路上皮相比, TUG1 在膀胱尿路上皮癌中呈高表达, 在体外实验中, TUG1 siRNA 转染的膀胱尿路上皮癌 T24 和 5637 细胞中均发现细胞增殖抑制和凋亡诱导。有研究发现, 与癌旁组织相比膀胱癌中的 TUG1 的表达水平显著增加($P<0.0001$), 在转移性膀胱癌组织中的表达也显著增加($P=0.0147$), 同时 TUG1 与膀胱癌患者的总生存期较短有关($P=0.0241$)。体外实验中, 对膀胱癌细胞系 T-24 进行 siRNA 沉默, 结果导致癌细胞增殖减少 34%($P=0.0004$), 癌细胞迁移能力降低 23%($P<0.0001$), 实验表明阻断 TUG1 的功能能控制膀胱癌的发展^[22]。Xie 等^[23]研究发现与阿霉素 Dox (+)膀胱癌样品相比, TUG1 在阿霉素 Dox(-)膀胱癌样品中的表达超过其 7 倍, 下调 TUG1 表达后可通过 Wnt/ β -catenin 通路抑制膀胱癌细胞对阿霉素(Dox)的耐药性。Jiang 等^[24]发现阻断 TUG1 功能后可抑制 HMGB1 表达来增强膀胱癌的放射敏感性。

3.6 SPRY4-IT1 与膀胱癌

SPRY4 内含子转录本 1 (SPRY4 intronic transcript 1, SPRY4-IT1)(基因 ID:100642175), 位于人体染色体 5q31.3 区, 有一个外显子。它可以介导细胞生长、增殖和凋亡, 它调节脂质 2 的水平, 因此可能参与脂质的生物合成。SPRY4-IT1 在多种肿瘤组织和细胞系中高表达, 越来越多的研究表明其在黑色素瘤、乳腺癌、食管鳞状细胞癌、非小细胞肺癌、胃癌、结肠癌和肝细胞癌等多种癌症中失调, 同时 SPRY4-IT1 的扩增也与癌症患者的临床病理特征有关。2015 年 Zhao 等^[25]通过定量实时 PCR 检测膀胱尿路上皮癌组织中 SPRY4-IT1 表达, 同时在体外实验中对其在膀胱癌进展中的作用进行了研究, 结果显示在膀胱尿路上皮癌组织中 SPRY4-IT1 的表达高于癌旁组织, 其表达水平与组织学分级、肿瘤分期、淋巴结转移高度相关。另外, 体外实验结果表明, 在膀胱癌细胞中抑制 SPRY4-IT1 表达明显抑制细胞增殖、迁移和侵袭, 该结果提示 SPRY4-IT1 可作

为膀胱癌患者整体生存率的独立预后因子。最近一项新的研究发现 SPRY4-IT1 可以直接与 miR-101-3p 相互作用,下调 miR-101-3p,有效逆转 SPRY4-IT1 shRNA 诱导的 EZH2 抑制,从而上调 EZH2 的表达,促进膀胱癌细胞增殖和转移^[26]。由此提出基于 SPRY4-IT1 治疗策略的下调这种致癌 lncRNAs 的表达,可能会提供一种新的和有希望的替代治疗方法未来的癌症治疗。

4 展 望

近年来对 lncRNA 的研究不断深入及同步积累的实验数据都说明 lncRNA 在膀胱癌发展的各个时期都具有多层面的功能,lncRNA 可能会成为临床诊断及治疗膀胱癌的重要靶点和特异性生物标志物,但是,lncRNA 研究的深度和广度仍不及 mRNA 和 miRNA,膀胱癌中 lncRNA 的研究与其他肿瘤相比仍然较少,更加广泛而深入的研究膀胱癌与 lncRNA 的关系,将有利于更好地了解膀胱癌的发展机制并运用到临床膀胱癌的诊断、治疗、复发监测等实践当中,为膀胱癌的临床治疗提供新的突破口。

参考文献:

- [1] Kim ED,Sung S. Long noncoding RNA:unveiling hidden layer of gene regulatory networks [J]. Trends Plant Sci, 2012,17(1):16-21.
- [2] Dunham I,Kundaje A,Aldred SF,et al. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome[J]. Nature, 2012,489(7414):57-74.
- [3] Hu Q,Yao HR. The current status of long non-coding RNA and tumor [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2014,21(21):1747-1748. [胡倩,姚和瑞. 长链非编码 RNA 与肿瘤研究现状[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2014,21(21):1747-1748.]
- [4] Di Gesualdo F,Capaccioli S,Lulli M. A pathophysiological view of the long non-coding RNA world [J]. Oncotarget, 2014,5(22):10976-10996.
- [5] Thorvaldsen JL,Duran KL,Bartolomei MS.Deletion of the H19 differentially methylated domain results in loss of imprinted expression of H19 and Igf2 [J]. Genes Dev, 1998,12(23):3693-3702.
- [6] Liu C,Chen Z,Fang J,et al. H19-derived miR-675 contributes to bladder cancer cell proliferation by regulating p53 activation[J]. Tumor Biol, 2016,37(1):263-270.
- [7] Lv M,Zhong Z,Huang M,et al. LncRNA H19 regulates epithelial-mesenchymal transition and metastasis of bladder cancer by miR-29b-3p as competing endogenous RNA [J]. Biochim Biophys Acta, 2017,1864(10):1887-1899.
- [8] Wu W,Zhang S,Li X,et al. Ets-2 regulates cell apoptosis via the Akt pathway,through the regulation of urothelial cancer associated 1,along non-coding RNA,in bladder cancer cells[J]. PLoS One, 2013,8(9):e73920.
- [9] Luo J,Chen J,Li H,et al. LncRNA UCA1 promotes the invasion and EMT of bladder cancer cells by regulating the miR-143/HMGB1 pathway[J]. Oncol Lett, 2017,14(5): 5556-5562.
- [10] Li HJ,Sun XM,Li ZK,et al. LncRNA UCA1 promotes mitochondrial function of bladder cancer via the miR-195/ARL2 signaling pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(6):2548-2561.
- [11] Li T,Sun X,Jiang X. UCA1 involved in the metformin-regulated bladder cancer cell proliferation and glycolysis [J]. Tumour Biol, 2017,39(6):1010428317710823.
- [12] Wang XS,Zhang Z,Wang HC,et al. Rapid identification of UCA1 as a very sensitive and specific unique marker for human bladder carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(16):4851-4858.
- [13] Zhen S,Hua L,Liu YH,et al. Inhibition of long non-coding RNA UCA1 by CRISPR/Cas9 attenuated malignant phenotypes of bladder cancer [J]. Oncotarget, 2017,8(6): 9634-9646.
- [14] Yan TH,Lu SW,Huang YQ,et al. Upregulation of the long noncoding RNA HOTAIR predicts recurrence in stage Ta/T1 bladder cancer[J]. Tumour Biol, 2014,35(10): 10249-10257.
- [15] Sun X,Du P,Yuan W,et al. Long non-coding RNA HOTAIR regulates cyclin J via inhibition of microRNA-205 expression in bladder cancer[J]. Cell Death Dis, 2015,6:e1907.
- [16] Shang C,Guo Y,Zhang H,et al. Long noncoding RNA HOTAIR is a prognostic biomarker and inhibits chemosensitivity to doxorubicin in bladder transitional cell carcinoma [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2016,77(3): 507-513.
- [17] Martínez-Fernández M,Feber A,Dueñas M,et al. Analysis of the polycomb-related lncRNAs HOTAIR and ANRIL in bladder cancer[J]. Clin Epigenetics, 2015,7:109.
- [18] Chen Y,Xie H,Zou Y,et al. Tetracycline-controllable artificial microRNA-HOTAIR +EZH2 suppressed the progression of bladder cancer cells[J]. Mol Biosyst, 2017,13 (8):1597-1607.
- [19] Zhuang C,Li J,Liu Y,et al. Tetracycline-inducible shRNA targeting long non-coding RNA PVT1 inhibits cell growth and induces apoptosis in bladder cancer cells[J]. Oncotarget, 2015,6(38):41194-41203.
- [20] Li Z,Zhang H. LncRNA plasmacytoma variant translocation 1 is an oncogene in bladder urothelial carcinoma[J]. Oncotarget, 2017,8(38):64273-64282.
- [21] Han Y,Liu Y,Gui Y,et al. Long intergenic non-coding RNA TUG1 is overexpressed in urothelial carcinoma of the bladder[J]. J Surg Oncol, 2013,107(5):555-559.
- [22] Iliev R,Kleinova R,Juracek J,et al. Overexpression of long non-coding RNA TUG1 predicts poor prognosis and promotes cancer cell proliferation and migration in high-grade muscle-invasive bladder cancer [J]. Tumour Biol, 2016,37(10):13385-13390.
- [23] Xie D,Zhang H,Hu X,et al. Knockdown of long non-coding RNA taurine up-regulated 1 inhibited doxorubicin resistance of bladder urothelial carcinoma via Wnt/ β -catenin pathway[J]. Oncotarget, 2017,8(51):88689-88696.
- [24] Jiang H,Hu X,Zhang H,et al. Down-regulation of lncRNA TUG1 enhances radiosensitivity in bladder cancer via suppressing HMGB1 expression[J]. Radiat Oncol, 2017,12 (1):65.
- [25] Zhao XL,Zhao ZH,Xu WC,et al. Increased expression of SPRY4-IT1 predicts poor prognosis and promotes tumor growth and metastasis in bladder cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015,8(2):1954-1960.
- [26] Liu D,Li Y,Luo G,et al. LncRNA SPRY4-IT1 sponges miR-101-3p to promote proliferation and metastasis of bladder cancer cells through up-regulating EZH2[J]. Cancer Lett, 2017,388: 281-291.