

ceRNA 与肿瘤*

张 振, 李 芬 (淮安市淮阴医院检验科, 江苏淮安 223300)

摘要:长链非编码 RNA(LncRNA)、微小 RNA(miRNA)、mRNA 及假基因是竞争性内源 RNA(ceRNA)理论的重要组成部分。LncRNA 和 miRNA 都属于非编码 RNA 的范畴,不具备蛋白编码能力,不能翻译为蛋白质。LncRNA 是一类转录本长度>200 个核苷酸的 RNA 分子,可在表观遗传、转录或转录后调控等多种方式在生物体内发挥重要作用。MicroRNA 长约 22 个核苷酸,可与靶 mRNA 3'UTR 区互补结合,抑制靶 mRNA 的翻译或降解 mRNA。mRNA 具有蛋白编码能力,且大多数 mRNA 中分布大量的 microRNA 反应元件(MRE)。假基因拥有与编码基因高度同源的基因序列,与亲代编码基因相同或相似的 MREs,但失去了编码蛋白质的能力。LncRNA, mRNA, 假基因及 miRNA 可通过 MREs 进行相互作用,各类型 RNA 之间通过竞争 MREs 构成一个庞大的 ceRNA 调控网络,在肿瘤的发生发展中发挥重要作用。

关键词:长链非编码 RNA;微小 RNA;竞争性内源 RNA;microRNA 反应元件;肿瘤

中图分类号:R730.43 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2016)04-128-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.04.036

人类基因组计划发现,组成人类基因组的 30 亿个碱基序列中,只有 1.5% 的序列编码蛋白质,其余大部分序列不编码任何蛋白质。这些不具备蛋白编码能力的序列曾经被认为没有功能的“垃圾序列”。近年来,大量研究表明这些“垃圾序列”具有重要的生物学功能,可在表观遗传调控、转录调控及转录后调控等多种层面影响基因的表达,其中就包括 LncRNA 及 miRNA^[1~4]。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, LncRNA)是一类转录本长度超过 200 碱基的 RNA 分子,缺少有效开放阅读框,不编码蛋白质,广泛分布于哺乳动物体内。目前, LncRNA 逐渐成为越来越受关注的调控因子,可在染色质重塑、转录调控等多种层面调控目的基因的表达。miRNA 长约 22 个核苷酸,可在转录后水平调控基因的表达,是一类高度保守的非编码小分子 RNA。成熟的 miRNA 可通过 miRNA 反应元件(miRNA response elements, MREs)与靶 mRNA 部分互补结合,引起靶 mRNA 的降解或者阻止靶 mRNA 的翻译,抑制靶基因的表达。近年来,越来越多研究表明 miRNA 与 LncRNA 在肿瘤的发生发展中发挥重要作用,它们之间存在复杂的调控网络关系。哈佛大学的研究人员在 2011 年提出了竞争性内源 RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)假说。该假说认为 mRNA、假基因及 LncRNA 等转录本都通过新的“语言”媒介 MREs 竞争性结合 miRNA 进行交流,相互调控各自的表达水平,从而构成庞大的调节网络^[5]。ceRNA 假说的提出对于肿瘤的发生发展机制提供了新的重要线索及研究方向,对于肿瘤的诊断、治疗等提供新的指导理论^[5]。

1 ceRNA 理论概述 ceRNA 理论的主体为 miRNA, mRNA、假基因及 LncRNA。miRNA 是最近几年来生物医学研究的热点,可通过 MREs 与靶 mRNA 部分互补结合,抑制靶基因的表达。每个 mRNA 有不同的 MREs,意味着可多个 microRNA 同时作用于同一条 mRNA,同时每个 microRNA 又可以抑制多个 mRNA,这就构成了 microRNA 调节着大量的 mRNA,参与着包括肿瘤在内等疾病的

发生发展^[6,7]。mRNA 为蛋白编码基因,人类蛋白编码基因大概有 2 万个左右,大多数 mRNA 中分布大量的 MREs^[8]。假基因是由于基因突变等原因失去了蛋白编码功能,但是假基因拥有与编码基因高度同源的基因序列,因而展示与亲代编码基因相同或相似的 MREs^[9]。LncRNA 是近几年生物医学研究的“新宠”,分为 5 类:包括正义(sense)、反义(antisense)、基因内(intronic)、基因间(intergenic)及双向(bidirectional) LncRNA^[10]。他们广泛存在于真核生物中,参与基因组印记、转录激活、染色体修饰等多种生物学进程^[11]。ceRNA 假说认为 miRNA 与 mRNA 存在相互作用模式,各种类型的 RNA 分子(包括假基因、mRNA, LncRNA 等,为 ceRNA 分子),只要有共同的 MREs,就可能通过竞争性抑制 miRNA 而相互调控,即某一 mRNA 下调时,它的靶 miRNA 的浓度就会上升,进而使得那些与它拥有相同 MRE 的 mRNA 下调^[5]。

2 ceRNA 与肿瘤 肿瘤的发生发展是多基因参与的复杂过程,有复杂的调控网络。ceRNA 理论提出的时间较短,但是由于其的创新性以及可行性,目前已经有研究证实了 ceRNA 在多种肿瘤发生发展中的重要作用^[12]。

2.1 ceRNA 与肺癌 肺癌是世界范围内的恶性肿瘤,死亡率逐年上升。研究表明, Hmga2 在转移性肺癌中表达水平升高,可作为 ceRNA 参与肺癌的生物学进程。Hmga2 和 miRNA let-7 家族有共同的 MREs, Hmga2 竞争性抑制 let-7 家族的活性,进而影响靶基因 Tgfbr3 的表达水平,最终通过 TGF- β 信号通路影响肺癌的发生发展^[13]。Liu 等^[14]研究发现, AEG-1 的 3'UTR 区域可发挥 ceRNA 的功能,通过抑制 RNA-30a,在非小细胞肺癌中直接调控 Vimentin 和 Snail,从而影响肺癌的发生发展。

2.2 ceRNA 与胃癌 胃癌源于胃部表层黏膜上皮细胞,是消化系统常见的恶性肿瘤,位于世界范围内肿瘤相关死亡的第三位^[15]。Xia 等^[16]研究发现 LncRNA FER1L4(fer-1-like family member 4, pseudogene)在胃癌中表达水平显著降低,且 FER1L4 的表达水平与 PTEN mRNA 表达水平

* 作者简介:张 振(1986—),男,硕士,检验师,专业:分子诊断学研究, E-mail:495881552@qq.com。

通讯作者:李 芬, Tel:13776709866, E-mail:3063892835@qq.com。

正相关。FER1L4 可通过 MRE 结合 miRNA-106a-5P, 引起 miRNA-106a-5P 对 PTEN 的抑制作用减弱。FER1L4 的低表达导致 miRNA-106a-5P 对 PTEN 的抑制作用增强, 最终引起 PTEN mRNA 及蛋白表达水平的降低, 促进胃癌的发生发展。有研究表明, MEG3 在胃癌细胞及病人中表达水平降低, 而且低表达的 MEG3 与转移性胃癌密切相关。MEG3 也以 ceRNA 的方式参与了胃癌的发生发展。MEG3, miRNA-181a 及 Bcl-2 形成 ceRNA 网络, 调控胃癌的生物学进程, 而且可能作为胃癌潜在的靶点指导胃癌的治疗^[17]。

2.3 ceRNA 与肝癌 肝癌是涉及多基因、多通路复杂过程的恶性肿瘤, 侵袭力强、死亡率高、预后较差。Wang 等^[18]于 2013 年发表于 Carcinogenesis 的研究发现了假基因 OCT4-pg4 作为天然 miRNA 海绵竞争性结合 miRNA-145, 导致 miRNA-145 对 OCT4 的抑制作用减弱, OCT4 作为癌基因进而促进肝癌的发生发展。肝癌高表达基因 (highly upregulated in liver cancer, HULC) 是肝癌中表达显著上调的 LncRNA, 它位于 6p24.3, 有 2 个外显子和 1 个内含子, 在肝癌发生发展中发挥重要作用^[19]。已有研究表明 HULC 作为 ceRNA 在肝癌中发挥一定的作用, HULC 可与 cAMP 反应元件结合蛋白 (cyclic AMP responsive element binding protein, CREB) 及 miR-372 形成调控网络参与肝癌的发生发展。HULC 发挥内源性 miRNA 海绵作用抑制 miR-372 的功能, 当 HULC 升高后, 通过 MRE 与 miR-372 互补结合, 接触 miR-372 对 cAMP 依赖性蛋白激酶催化亚基的抑制作用, 影响 PKA 信号通路, 进一步影响肝癌的进程^[20]。

2.4 ceRNA 与前列腺癌 前列腺癌是在多个基因调控发生的一种泌尿系统肿瘤, 相关研究表明基因的表达差异及调控网络在前列腺癌的发生发展中发挥重要作用^[21]。KRAS 假基因 1 (KRAS pseudogene 1, KRASP1) 和 KRAS 序列有一定的同源性, 都有相关 miRNA 的结合位点。在前列腺癌中, KRASP1 和 KRAS 有 let-7 family 和 miR-143 的 MREs, KRASP1 可通过竞争性结合这些 miRNA 从而调控 KRAS 的表达水平, 进而影响前列腺癌的生物学进程^[22]。PTEN 与其假基因 PTENP1 也有很高的序列同源性, 有很多共同的 MREs, 可与相关 miRNA 形成 ceRNA 调控网络。PTEN 是研究较多的抑癌基因, 在众多肿瘤中均出现失活现象, PTEN 基因的突变, PTEN mRNA 及蛋白的低表达可导致机体抗肿瘤活性的降低^[23,24]。研究表明 PTENP1 通过竞争性结合 miRNA-19b, miRNA-20a 及 miRNA-21 等多种 miRNA 进一步削弱相关 miRNA 对 PTEN 的抑制作用, 使 PTEN mRNA 或者蛋白的表达水平升高, 抑制肝癌的发生发展^[25]。

2.5 ceRNA 与乳腺癌 乳腺癌的发病呈年轻化及逐年增高的趋势, 是女性常见的恶性肿瘤之一。人体内特定基因的正常影响着乳腺癌的发生发展, ceRNA 与乳腺癌关系的研究也取得了一定的进展。Yang 等^[26]研究发现了 FOXO1-3'UTR 以及 E-cadherin-3'UTR 区域都有 miR-

NA9 的结合位点, FOXO1-3'UTR 可作为 ceRNA 诱导 E-cadherin 的表达, 进一步抑制乳腺癌的转移。透明质酸结合蛋白 versican mRNA 在乳腺癌中发挥了一定的生物学作用。versican mRNA 的 3-UTR 在乳腺癌中能够竞争性结合 miRNA-199a-3p, miRNA-136 及 miRNA-144, 从而影响上述 miRNA 的结合靶点 RB1 及 PTEN, 通过 ceRNA 的模式在乳腺癌的进程中发挥调控作用^[27]。miRNA-216a, miRNA-330 及 miRNA-608 有 CD44 mRNA 3'UTR 的结合位点, CD44 mRNA 3'UTR 能够与细胞周期分裂蛋白 42 (CDC42) 通过共同的 MREs 竞争性结合上述 miRNA。CD44 mRNA 3'UTR 表达水平的升高可削弱 miRNA 对 CDC42 的抑制作用, 从而抑制乳腺癌的发生发展^[28]。以上研究也表明了蛋白编码基因的 3'UTR 可能通过内源性诱饵竞争 miRNAs 发挥强大的生物学活性。

3 ceRNA 在肿瘤中的应用前景 ceRNA 与肿瘤相关, 调控肿瘤的发生发展。假基因和 LncRNA 等 ceRNA 可成为潜在的癌基因或者抑癌基因参与肿瘤的生物学进程。miRNA 海绵 (miRNA sponge) 是一种将 MRE 的数个拷贝连接起来并克隆到病毒载体上的人工合成的转录体, 可抑制 miRNA 的活性, 是一种特定的 miRNA 抑制剂^[29]。ceRNA 相当于内源性海绵, 与 miRNA 海绵相比, 其优势明显, 可抑制多个 miRNA 的多个 MRE。miRNA 海绵及内源性海绵 ceRNA 可能成为未来 RNA 治疗肿瘤等疾病的新的模式^[5,30]。ceRNA 理论的提出将对传统的 mRNA 需要通过翻译为蛋白质才能发挥一定的生物学功能及制作基因敲除小鼠时只考虑基因编码区的功能而忽略 UTR 区 (miRNA 结合位点可出现于 UTR 区, 从而可能忽略基因的全部功能) 等传统理论做出一定的挑战与创新。

目前, ceRNA 的研究还处于起步阶段, 还需要大量的数据和研究来支持 ceRNA 在肿瘤等相关疾病的进程中发挥了重要的作用。但我们相信随着高质量的数据库的建立, 研究手段的丰富及系统深入研究工作的开展, 一定可以揭开 ceRNA 背后隐藏的秘密, 为提高肿瘤等相关疾病的预测、诊断及治疗等做出一定的贡献。

参考文献:

- [1] Muers M. RNA: Genome-wide views of long non-coding RNAs[J]. Nat Rev Genet, 2011, 12(11): 742.
- [2] Zhang R, Zhang L, Yu W. Genome-wide expression of non-coding RNA and global chromatin modification [J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2012, 44(1): 40-47.
- [3] Caley DP, Pink RC, Trujillano D, et al. Long noncoding RNAs, chromatin, and development [J]. Sci World J, 2010(10): 90-102.
- [4] Hertel J, de Jong D, Marz M, et al. Non-coding RNA annotation of the genome of Trichoplax adhaerens [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(5): 1602-1615.
- [5] Salmena L, Poliseno L, Tay Y, et al. A ceRNA hypothesis: the rosetta stone of a hidden RNA language? [J]. Cell, 2011, 146(3): 353-358.
- [6] Lu M, Zhang Q, Deng M, et al. An analysis of human microRNA and disease associations [J]. PLoS One, 2008, 3(10): e3420.
- [7] Thomas M, Lieberman J, Lal A. Desperately seeking

- microRNA targets[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(10):1169-1174.
- [8] Baltimore D. Our genome unveiled[J]. *Nature*, 2001, 409(6822):814-816.
- [9] ENCODE Project consortium, Birney E, Stamatoyannopoulos J, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project [J]. *Nature*, 2007, 447(7146):799-816.
- [10] Steck E, Boeuf S, Gabler J, et al. Regulation of H19 and its encoded micro RNA-675 in osteoarthritis and under anabolic and catabolic in vitro conditions[J]. *J Mol Med (Eerl)*, 2012, 90(10):1185-1195.
- [11] Rinn JL, Chang HY. Genome regulation by long non-coding RNAs[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2012(81):145-166.
- [12] Karreth FA, Pandolfi PP. ceRNA cross-talk in cancer; when ce-bling rivalries go awry[J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(10):1113-1121.
- [13] Kumar MS, Armenteros-Monterroso E, East P, et al. HMGA2 functions as a competing endogenous RNA to promote lung cancer progression[J]. *Nature*, 2014, 505(7482):212-217.
- [14] Liu K, Guo L, Guo Y, et al. AEG-1 3'-untranslated region functions as a ceRNA in inducing epithelial-mesenchymal transition of human non-small cell lung cancer by regulating miR-30a activity[J]. *Eur J Cell Biol*, 2015, 94(1):22-31.
- [15] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2):69-90.
- [16] Xia T, Chen SC, Zhen J, et al. Long noncoding RNA FER1L4 suppresses cancer cell growth by acting as a competing endogenous RNA and regulating PTEN expression[J]. *Sci Rep*, 2015(5):13445.
- [17] Peng WZ, Si S, Zhang Q, et al. Long non-coding RNA MEG3 functions as a competing endogenous RNA to regulate gastric cancer progression[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34(1):79.
- [18] Wang L, Guo ZY, Zhang R, et al. Pseudogene OCT4-pg4 function as a natural microRNA sponge to regulate OCT4 expression by competing for miR-145 in hepatocellular carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(8):1773-1781.
- [19] Matouk IJ, Abbasi I, Hochberg A, et al. Highly up-regulated in liver cancer noncoding RNA is overexpressed in hepatic colorectal metastasis[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 21(6):688-692.
- [20] Wang J, Liu X, Wu H, et al. CREB up-regulates long non-coding RNA, HULC expression through interaction with microRNA-372 in liver cancer[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(16):5366-5383.
- [21] Kim J, Yu J. Interrogating genomic and epigenomic data to understand prostate cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1825(2):186-196.
- [22] Poliseno L, Salmena L, Zhang J, et al. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumor biology [J]. *Nature*, 2010, 465(7301):1033-1038.
- [23] Dillon LM, Miller TW. Therapeutic targeting of cancers with loss of PTEN function[J]. *Curt Drug Targets*, 2014, 15(1):65-79.
- [24] Salmena L, Carracedo A, Pandolfi PP. Tenets of PTEN tumor suppression[J]. *Cell*, 2008, 133(3):403-414.
- [25] Johnsson P, Ackley A, Vidarsdottir L, et al. A pseudogene long-noncoding-RNA network regulates PTEN transcription and translation in human cells [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20(4):440-446.
- [26] Yang J, Li T, Gao C, et al. FOXO1 3'UTR functions as a ceRNA in repressing the metastases of breast cancer cells via regulating miRNA activity[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(17):3218-3224.
- [27] Lee DY, Jeyapalan Z, Fang L, et al. Expression of versican 3'-untranslated region modulates endogenous microRNA function [J]. *PLoS One*, 2010, 5(10):e13599.
- [28] Jeyapalan Z, Deng Z, Shatseva T, et al. Expression of CD44 3'-untranslated region regulates endogenous microRNA functions in tumorigenesis and angiogenesis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(8):3026-3041.
- [29] Ebert MS, Neilson JR, Sharp PA. microRNA sponges; competitive inhibitors of small RNAs in mammalian cells[J]. *Nat Methods*, 2007, 4(9):721-726.
- [30] Brown BD, Cantore A, Annoni A, et al. A microRNA-regulated lentiviral vector mediates stable correction of hemophilia B mice[J]. *Blood*, 2007, 110(13):4144-4152.

收稿日期:2016-01-29

修回日期:2016-05-21

- (上接 127 页) Urine podocin: nephrin mRNA ratio (PNR) as a podocyte stress biomarker[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(11):4079-4087.
- [2] Li B, Hartono C, Ding R, et al. Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine [J]. *N Eng J Med*, 2001, 344(13):947-954.
- [3] Wang G, Lai FM, Lai KB, et al. Urinary messenger RNA expression of podocyte-associated molecules in patients with diabetic nephropathy treated by angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin receptor blocker[J]. *Eur J Endocrinol*, 2008, 158(3):317-322.
- [4] Matignon M, Ding R, Dadhania DM, et al. Urinary cell mRNA profiles and differential diagnosis of acute kidney graft dysfunction[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(7):1586-1597.
- [5] Jim B, Santos J, Spath F, et al. Biomarkers of diabetic nephropathy, the present and the future[J]. *Curr Diabetes Rev*, 2012, 8(5):317-328.
- [6] Kufer P, Zippelius A, Lutterbuse R, et al. Heterogeneous expression of MAGE-A genes in occult disseminated tumor cells; anovel multimarker reverse transcription-polymerase chain reaction for diagnosis of micrometastatic disease [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(1):251-261.
- [7] 王震炜, 徐晓萍, 徐磊, 等. 血 Cystatin C 与尿 NAG 在急性肾功能损伤中的诊断应用[J]. *现代检验医学杂志*, 2011, 26(2):125-126, 128.
- Wang ZW, Xu XP, Xu L, et al. Serum Cystatin C and urinary NAG measurements for diagnosis of acute kidney injury [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2011, 26(2):125-126, 128.
- [8] Szeto CC, Tam LS, Kwan BC, et al. Monitoring of urinary messenger RNA levels for the prediction of flare in systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(3/4):448-455.

收稿日期:2016-01-18

修回日期:2016-04-13