

长链非编码 RNA 对结直肠癌潜在诊断价值的研究进展*

白盈盈^{1,2}, 朱光旭¹, 潘兴华¹ (1. 成都军区昆明总医院 细胞生物治疗中心, 细胞生物医药技术国家地方联合工程实验室, 云南省干细胞工程实验室, 昆明 650032;

2. 昆明医科大学 成都军区昆明总医院临床学院, 昆明 650500)

摘要: 结直肠癌是常见的恶性肿瘤, 其发病率和死亡率均有上升趋势。有效的诊断方式是提高结直肠癌患者生存的关键, 但是现有的检测方法, 如结肠镜、粪便潜血试验等, 在结直肠癌诊断中均有局限性。长链非编码 RNA 是近年来的研究热点, 长链非编码 RNA 的异常表达与结直肠癌的发生、发展密切相关。该文就长链非编码 RNA 与结直肠癌的诊断进行一简要综述。

关键词: 长链非编码 RNA; 结直肠癌; 生物学标记物

中图分类号: R735.3; R730.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2018)01-161-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.01.043

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球常见恶性肿瘤之一, 美国癌症协会(American cancer society, ACS)最新报告指出, CRC的发病率在男女中均居第三位, 死亡率在男性中更高居第二位^[1]。在中国, CRC的发病率、死亡率已高居第五位, 且呈上升趋势, 每年约有191万人死于此病^[2]。早期CRC的5年生存率高达95%, 晚期则下降到35%, 但是, 多数患者初诊时已到中晚期, 错过了最佳治疗时机^[3]。目前, CRC诊断的主要方法有结肠镜检查 and 粪便隐血试验, 但是前者是侵入性检查, 价格昂贵、高风险、多并发症, 后者缺乏特异性^[4], 难以快速的进行诊断。因此, 临床上需要更加完善的诊断标准和更加灵敏的诊断指标来确诊CRC, 以期临床上改善CRC患者的生存状态提供更精确的依据。研究表明, 长链非编码RNA可以通过多种调控方式影响细胞的生长发育, 与CRC的发生、发展、转移和预后等密切相关^[5]。lncRNA有望成为CRC诊断、治疗和预后评估的新型分子标志物, 具有非常广阔的研究和应用前景。

1 lncRNA 概述 长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类定位于细胞核或细胞质中, 转录本长度大于200 nt的, 不具备编码蛋白质功能的RNA分子, 绝大多数由RNA聚合酶II转录并经可变剪接而来, 且以RNA的形式在表观遗传学、转录和转录后等层面调控基因的表达水平^[6]。最初, lncRNA被称为“暗物质”, 随着高通量技术的发展, 研究发现lncRNAs参与了染色质修饰、DNA甲基化、组蛋白修饰、基因组印记、转录激活、转录干扰、核内运输等多种重要的调控, 并与包括肿瘤在内的许多疾病有着密切联系^[7]。对于

lncRNA的分类, 现阶段尚未见有统一的标准, 文献上多按照lncRNA编码序列与蛋白质编码基因的相对位置划分为: ①正义链lncRNA, 其转录于蛋白质编码基因的正义链; ②反义链lncRNA, 其由蛋白质编码基因的反义链转录产生; ③双向lncRNA, 其转录于蛋白质编码基因的两条反向互补链, 且转录起始位点间的距离小于1 000 bp; ④内含子lncRNA, 其来源于蛋白质编码基因的内含子序列; ⑤基因间lncRNA, 其来源于两条蛋白质编码基因的基因间隔区^[8]。

2 lncRNA 作为结直肠癌检测标志物 随着美国食品和药物管理局批准前列腺癌抗原3(prostate cancer antigen 3, PCA3)作为前列腺癌的诊断标志物应用于临床, 关于lncRNA应用于肿瘤诊断的研究越来越多。研究表明, lncRNA与CRC的发生、发展、侵袭等密切相关, 在CRC患者的病变组织、血液等检测中可发现异常表达的lncRNA^[9]。多种lncRNA在CRC中存在异常表达(表1), 这为其在CRC诊断中的应用提供了相应的实验室基础。

2.1 肺癌转移相关转录本 1 肺癌转移相关转录本1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1)又名核富集常染色体转录产物2(nucleolar-enriched autosomal transcript 2, NEAT2), 长8 708 nt, 其编码基因定位于11q13.1, 最初在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSC-LC)研究中被发现^[21]。最新研究发现, MALAT1可调控SRPK1介导的SRSF1的磷酸化, 使PRKA激酶锚蛋白9(A kinase anchor protein 9, AKAP-9)在mRNA和蛋白质水平

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81170316), 国家科技支撑计划项目(2014BAI01B01~05)。

作者简介: 白盈盈(1990—), 女, 硕士研究生在读, 主要从事临床检验诊断学研究, E-mail: baiyingying64@126.com。

通讯作者: 朱光旭, E-mail: zhgxu@aliyun.com。

显著上调,AKAP-9 可促进 CRC 细胞增殖、侵袭和转移,表明 MALAT1 可调节靶蛋白 AKAP-9 促进 CRC 增殖、迁移和侵袭^[12]。常建兰等^[22]发现 MALAT1 在结直肠癌的表达量是腺瘤表达量的 1.78 倍,p53 和 MALAT1 的曲线下面积大于 0.7,对结直肠腺瘤和 CRC 的诊断有较高的准确性,为 CRC 与腺瘤的鉴别诊断提供一定的实验依据。

Zheng 等^[23]研究发现 CRC 组织中 MALAT1 水平较癌旁组织高 2.26 倍,高表达于 II/III 期 CRC 患者,提示 MALAT1 可能成为 CRC 诊断、转移和预后的一种潜在检测指标。但是,MALAT1 不仅在结直肠癌,而且在肺癌、胰腺癌、肝癌和食管癌等多种肿瘤中均有不同程度的异常表达,因此在特异性方面尚需更精确的实验证实。

表 1 结直肠癌中异常表达的 lncRNA

表达水平	lncRNA	位点	长度	生物学功能
上调	CCAT ^[10]	8q24.21	2 628nt	调控 c-MYC,促进肿瘤细胞增殖、侵袭转移
	HOTAIR ^[11]	12q13.13	2 337nt	调控 Wnt,PI3K 和 Akt 等信号通路促进细胞增殖
	MALAT1 ^[12]	11q13.1	8 708nt	调节 AKAP-9 促进肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭
	CRNDE ^[13]	16q12.2	1 kb	调控 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进细胞增殖
	HULC ^[14]	6p24.3	500nt	剪切 miRNA,激活癌细胞侵袭和转移
	CCAT2 ^[15]	8q24.21	340nt	通过 WNT 信号通道促进肿瘤细胞增殖转移
	CCAT1-L ^[16]	8q24.21	5 200nt	调控 c-MYC 表达,促进肿瘤增殖、转移
下调	MEG3 ^[17]	14q32.2	1.6~1.8kb	介导 p53 信号,抑制细胞增殖
	GAS5 ^[18]	1q25.1	630nt	与抑癌基因 P53 关系密切
	ncRAN ^[19]	17q25.1	2.3kb	抑制结肠癌细胞迁移和侵袭
上调/下调	H19 ^[20]	11q15.5	6295nt	以调节性 RNA 的方式发挥抑癌和促癌的双重作用。

2.2 结肠癌相关转录因子 1 结肠癌相关转录因子 1(colon cancer associated transcript 1,CCAT1)长度为 5 200 nt,定位于染色体组 8q24.21,是 Nissan 等^[24]在 2012 年通过代表性差别分析法发现的一种 lncRNA 转录因子,是人类结直肠癌特异性的 lncRNA,在结直肠癌中表达上调。研究发现,CCAT1 在原癌基因 c-MYC 上游,与 c-MYC 邻近,参与调控 c-MYC 的转录和染色质构象,从而在结直肠癌的发展过程中起重要的作用^[10]。CCAT1 在 CRC 组织中的表达水平比正常黏膜组织高达 235 倍,在外周血液中同样有 40% 的患者表达上调,CCAT1 与 CRC 密切相关^[10]。随后有研究表明,CCAT1 在健康者、结直肠腺瘤及 CRC 患者外周血中的表达量呈逐渐递增趋势,结直肠癌组 ROC 曲线下面积与结直肠腺瘤组相比有显著差异,表明 CCAT-1 表达对结直肠癌有较高的诊断价值,可作为结直肠癌早期筛查的一种有价值的标志物^[25]。Kam 等^[26]发现 TO-PNA-MB 与 lncRNA CCAT1 杂交产生特殊的荧光信号,可以在 CRC 细胞及组织中测得 CCAT1 的高表达,这为检测 CCAT1 提供了一种新的检测手段。因此,CCAT1 是潜在的 CRC 特异性的肿瘤标志物,应用于 CRC 的诊断。

2.3 结直肠癌差异表达基因 结直肠癌差异表达基因 lncRNA (lncRNA colorectal neoplasia differentially expressed,CRNDE)位于 16q12.2,由 1

070 个核苷酸组成。Ellis 等^[27]研究发现 CRNDE 作为 PI3K/Akt/mTOR 和 Raf/MAPK 通路的下游信号靶点,其高度保守转录序列 gVC-In4,通过胰岛素/胰岛素样生长因子调节影响细胞新陈代谢,进而使 CRNDE 在 CRC 细胞中表达上调,参与 CRC 的发生、发展。随后发现,CRNDE 可以通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进细胞增殖^[13]。Graham 等^[28]的研究显示 CRNDE 在结直肠腺瘤和结肠腺瘤患者血浆中的表达高于健康者,并且 CRNDE 存在多种转录体,如 CRNDE-a,-b,-e,-f 和-h,在 CRC 组织中均表达上调。其中 CRNDE-h 鉴别腺瘤组织和正常肠黏膜组织的敏感度为 95%,特异度为 96%;CRC 患者血浆 CRNDE-h 阳性率高达 87%,而正常人只有 7%。同样研究发现,在血清中 CRNDE-h 区分结直肠良性病变和健康者的敏感度为 70.3%,特异度为 94.4%^[29]。因此,CRNDE 参与了 CRC 的发生发展,可能成为一种无创性的诊断 CRC 的新型生物学标记物。

2.4 同源盒基因转录反义 RNA 同源盒基因转录反义 RNA (HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)定位于 12q13.13,是 Rinn 等^[30]在 11 种成纤维细胞中分析出来的世界上第一个具有反式转录调控作用的 lncRNA。HOTAIR 的作用机制较多,可以调控 Wnt,PI3K 和 Akt 等信号通路,促进细胞增殖;可以结合 PRC2 复合物至特异基因区域,引起组蛋白 H3K27 甲基化;也可结合

LSD1/CoREST/REST 抑制复合物,引起 H3K4 去甲基化,最终通过染色体修饰引起基因沉默^[11]。Kogo 等^[31]研究发现 HOTAIR 在 CRC 组织中的表达水平明显上升,尤其是伴有肝转移的Ⅳ期 CRC 组织,且与侵犯的深度、淋巴结和器官转移、肿瘤组织血管侵犯等密切相关。Svoboda 等^[32]发现组织中 HOTAIR 区别结直肠癌患者与健康者的灵敏度为 67%,特异度为 92.5%,且患者血中 HOTAIR 表达同样高于健康者,并与死亡率相关。HOTAIR 作为结直肠癌及其肝转移的标记物已经应用于临床,且其在预后等方面也具有潜在的临床应用价值。

2.5 其他 在 CRC 中异常表达的 lncRNA 还有很多,如 lncRNAUCA1, RP11-462C24.1, lncRNA-P21, SLC25A25-AS1, lncRNA-ATB 等,但在 CRC 诊断中的作用还需更多研究加以证实^[33]。同样研究发现,多个 lncRNA 或与 miRNA, CEA 等联合检测可以有效地提高诊断 CRC 的特异度和灵敏度^[34,35]。随着研究的深入,血液外泌体来源的 lncRNA 在 CRC 的诊断中得到快速发展,其诊断比血液中的 lncRNA 更准确,有望替代血液 lncRNA 成为新一代的 CRC 标志物^[29]。

3 展望 CRC 目前还没有直接治愈的方法,无创快速的检测方法和检测指标是 CRC 治疗中的中心环节,能够早期发现是采取相应治疗措施提高患者生存的关键。近年来,CRC 相关的不同种类的新的 lncRNA 不断被发现,其在 CRC 的发生、发展、侵袭等多个方面发挥的重要调控作用也被进一步阐明。异常表达的 lncRNA 有望成为 CRC 预防、诊断、预后和治疗的新型生物学检测指标。但是,lncRNA 作为 CRC 诊断指标正式应用于临床尚有许多需要解决的难题,如 lncRNA 在 CRC 中的作用机制尚未完全明确;与 CRC 特异度、敏感度高的相关的 lncRNA 有待继续发现;其在血液、尿液、粪便等中的稳定性如何,在血液、尿液以及粪便中检测出的差异表达 lncRNA 对于 CRC 诊断有何临床价值;此外 lncRNA 与 DNA 甲基化、组蛋白修饰等表观遗传学指标的联合检测是否更能提高诊断效率等,这些问题尚需进一步的临床研究加以证实。lncRNA 在 CRC 中呈现的差异表达,总结果为其作为 CRC 诊断可能的新型标志物提供了部分实验基础。然而 lncRNA 种类繁多,在包括 CRC 在内的多种肿瘤中的表达均出现有明显的差异,不同类型以及不同标本来源的 lncRNA 在 CRC 中的潜在诊断价值尚需大量细致深入的工作。

参考文献:

[1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017

[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.

- [2] Chen WQ, Zheng RS, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] Kanthan R, Senger JL, Kanthan SC. Molecular events in primary and metastatic colorectal carcinoma: A review [J]. Pathol Res Int, 2012(2012): 597497.
- [4] Kadiyska T, Nossikoff A. Stool DNA methylation assays in colorectal cancer screening [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(35): 10057-10061.
- [5] Roberts TC, Morris KV, Weinberg MS. Perspectives on the mechanism of transcriptional regulation by long non-coding RNA [J]. Epigenetics, 2014, 9(1): 13-20.
- [6] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long non-coding RNAs [J]. Cell, 2009, 136(4): 629-641.
- [7] Guttman M, Rinn JL. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs [J]. Nature, 2012, 482(7385): 339-346.
- [8] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions [J]. Nat Rev Genet, 2009, 10(3): 155-159.
- [9] Li QE, Ye GL, Guo JM. Long non-coding RNA, a new star sparkling in cancer molecular diagnosis [J]. Chin J Biochem Mol Biol, 2014, 30(3): 233-240.
- [10] Xiang JF, Yin QF, Chen T, et al. Human colorectal cancer-specific CCAT1-L lncRNA regulates long-range chromatin interactions at the MYC locus [J]. Cell Res, 2014, 24(5): 513-531.
- [11] Cai B, Song XQ, Cai JP, et al. HOTAIR: a cancer-related long non-coding RNA [J]. Neoplasma, 2014, 61(4): 379-391.
- [12] Hu ZY, Wang XY, Guo WB, et al. Long non-coding RNA MALAT1 increases AKAP-9 expression by promoting SRPK1-catalyzed SRSF1 phosphorylation in colorectal cancer cells [J]. Oncotarget, 2016, 7(10): 11733-11743.
- [13] Han P, Li JW, Zhang BM, et al. The lncRNA CRNDE promotes colorectal cancer cell proliferation and chemoresistance via miR-181a-5p-mediated regulation of Wnt/ β -catenin signaling [J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 9.
- [14] Yang XJ, Huang CQ, Peng CW, et al. Long noncoding RNA HULC promotes colorectal carcinoma progression through epigenetically repressing NKD2 expression [J]. Gene, 2016, 592(1): 172-178.
- [15] Kasagi Y, Oki E, Ando K, et al. The expression of CCAT2, a novel long noncoding RNA transcript, and rs6983267 single-nucleotide polymorphism genotypes in colorectal cancers [J]. Oncology, 2017, 92(1): 48-54.

- [16] Xiang JF, Yin QF, Chen T, et al. Human colorectal cancer-specific CCAT1-L lncRNA regulates long-range chromatin interactions at the MYC locus[J]. *Cell Res*, 2014, 24(5): 513-531.
- [17] Yin DD, Liu ZJ, Zhang E, et al. Decreased expression of long noncoding RNA MEG3 affects cell proliferation and predicts a poor prognosis in patients with colorectal cancer[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(6): 4851-4859.
- [18] Yin DD, He XZ, Zhang EB, et al. Long noncoding RNA GAS5 affects cell proliferation and predicts a poor prognosis in patients with colorectal cancer[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(11): 253.
- [19] Qi P, Xu MD, Ni SJ, et al. Down-regulation of nc-RAN, a long non-coding RNA, contributes to colorectal cancer cell migration and invasion and predicts poor overall survival for colorectal cancer patients[J]. *Mol Carcinog*, 2015, 54(9): 742-750.
- [20] Yang WW, Ning N, Jin XM. The lncRNA H19 promotes cell proliferation by competitively binding to miR-200a and derepressing β -catenin expression in colorectal cancer[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017(3): 2767484.
- [21] Ji P, Diederichs S, Wang W, et al. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer[J]. *Oncogene*, 2003, 22(39): 8031-8041.
- [22] 常建兰, 李祖国, 王晓燕, 等. p53, malat1, ki-67 和 β -catenin 基因 mRNA 检测在大肠癌分子诊断中的意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(34): 3849-3854.
- Chang JL, Li ZG, Wang XY, et al. Detection of p53, malat1, ki-67 and β -catenin mRNA expression and its significance in molecular diagnosis of colorectal carcinoma[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2008, 16(34): 3849-3854.
- [23] Zheng HT, Shi DB, Wang YW, et al. High expression of lncRNA MALAT1 suggests a biomarker of poor prognosis in colorectal cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(6): 3174-3181.
- [24] Nissan A, Stojadinovic A, Mitrani-Rosenbaum S, et al. Colon cancer associated transcript-1: a novel RNA expressed in malignant and pre-malignant human tissues[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(7): 1598-1606.
- [25] 崔戈, 张婷, 崔杰. 结肠癌相关转录因子 1 表达在结肠癌早期筛查及预后评估中的作用[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(7): 1008-1012.
- Cui G, Zhang T, Cui J. Value of colon cancer associated transcription factor 1 expression in early screening and prognosis assessment for patients with colorectal carcinoma[J]. *Acta Universitatis Medicinalis Nanjing(Natura Science)*, 2015, 35(7): 1008-1012.
- [26] Kam Y, Rubinstein A, Naik S, et al. Detection of a long non-coding RNA (CCAT1) in living cells and human adenocarcinoma of colon tissues using FIT-PNA molecular beacons[J]. *Cancer Lett*, 2014, 352(1): 90-96.
- [27] Ellis BC, Graham LD, Molloy PL. CRNDE, a long non-coding RNA responsive to insulin/IGF signaling, regulates genes involved in central metabolism[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(2): 372-386.
- [28] Graham LD, Pedersen SK, Brown GS, et al. Colorectal neoplasia differentially expressed (CRNDE), a novel gene with elevated expression in colorectal adenomas and adenocarcinomas[J]. *Genes Cancer*, 2011, 2(8): 829-840.
- [29] Liu T, Zhang X, Gao S, et al. Exosomal long noncoding RNA CRNDE-h as a novel serum-based biomarker for diagnosis and prognosis of colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(51): 85551-85563.
- [30] Rinn JL, Keasz M, Wang JK, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNA[J]. *Cell*, 2007, 129(7): 1311-1323.
- [31] Kogo R, Shimamura T, Mimori K, et al. Long non-coding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(20): 6320-6326.
- [32] Svoboda M, Slysokova J, Schneiderova M, et al. HOTAIR long non-coding RNA is a negative prognostic factor not only in primary tumors, but also in the blood of colorectal cancer patients[J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(7): 1510-1515.
- [33] 林洋, 许利剑. 长链非编码 RNA 在结直肠癌中的研究进展[J]. *医学研究生报*, 2016, 29(5): 556-560.
- Lin Y, Xu LJ. Research progress of long non-coding RNAs in colorectal cancer[J]. *J Med Postgra*, 2016, 29(5): 556-560.
- [34] Zhao WM, Song M, Zhang J, et al. Combined identification of long non-coding RNA CCAT1 and HOTAIR in serum as an effective screening for colorectal carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11): 14131-14140.
- [35] Wan LD, Kong JL, Tang JL, et al. HOTAIRM1 as a potential biomarker for diagnosis of colorectal cancer functions the role in the tumour suppressor[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(11): 2036-2044.