

DOI:10.16781/j.0258-879x.2019.02.0209

• 综述 •

上皮间质转化相关长链非编码 RNA 与胃癌的关系

李江, 袁士杰, 聂明明*

海军军医大学(第二军医大学)长海医院普通外科, 上海 200433

[摘要] 胃癌是威胁人类健康的主要恶性肿瘤之一, 其发生涉及多步骤、多基因的相互作用过程。上皮间质转化(EMT)是上皮细胞通过特定程序转化为有间质表型细胞的过程。研究表明长链非编码 RNA(lncRNA)可以通过与靶蛋白结合、作为竞争性内源 RNA 竞争微 RNA 等方式促进或抑制 EMT 过程, 且许多特异表达的 EMT 相关 lncRNA 与胃癌的侵袭、转移密切相关。本文主要就 EMT 相关 lncRNA 在胃癌侵袭和转移中的调控机制作一综述。

[关键词] 上皮间质转化; 长链非编码 RNA; 胃肿瘤; 肿瘤侵袭; 肿瘤转移

[中图分类号] R 735.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2019)02-0209-04

Epithelial-mesenchymal transition-related long non-coding RNA and gastric cancer

LI Jiang, YUAN Shi-jie, NIE Ming-ming*

Department of General Surgery, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] Gastric cancer is one of the main malignancies threatening human health, and its occurrence involves multistep and multigene interactions. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a biological process in which epithelial cells transform to mesenchymal phenotypic cells through specific procedures. Studies have shown that long non-coding RNAs (lncRNAs) can promote or inhibit EMT by binding to target proteins and competing microRNAs as competitive endogenous RNAs, and some specific EMT-related lncRNAs are deeply involved in the invasion and metastasis of gastric cancer. In this review, we summarized the recent mechanisms of EMT-related lncRNAs in the regulating the invasion and metastasis of gastric cancer.

[Key words] epithelial-mesenchymal transition; long non-coding RNA; stomach neoplasms; neoplasm invasiveness; neoplasm metastasis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(2): 209-212]

胃癌是威胁人类健康的主要恶性肿瘤之一, 其发病率居恶性肿瘤的第 6 位, 病死率居第 2 位^[1]。中晚期胃癌患者的预后很差, 其中绝大部分患者死因归于肿瘤的远处转移^[2]。研究表明, 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)在肿瘤转移过程中发挥重要作用。EMT 发生后细胞的黏附力下降, 侵袭和转移能力增强, 对凋亡的抗性提高, 在此过程中间质细胞相关标志物波形蛋白(vimentin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)等表达上调, 上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达下调^[3]。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)在胃癌的发生、发展过程中

发挥着促癌或抑癌作用, 可以通过调节 E-钙黏蛋白等细胞连接蛋白及碱性的螺旋-环-螺旋蛋白(Twist1)、E 盒结合锌指蛋白(ZEB1, ZEB2)、Snail 超家族(Snail, Slug)等 EMT 诱导转录因子来调控 EMT 进程^[4]。本文旨在结合新的研究及文献, 总结部分 EMT 相关 lncRNA 在胃癌中的调控作用和分子机制, 梳理和加深对 EMT 调控机制的认识。

1 lncRNA 概述

lncRNA 属于人类基因组的转录产物, 其 RNA 长度为 200~100 000 nt。既往认为 lncRNA 没

[收稿日期] 2018-07-15 **[接受日期]** 2018-09-18

[基金项目] 国家自然科学基金(81472277)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81472277)。

[作者简介] 李江, 硕士。E-mail: 408882897@qq.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161589, E-mail: niemm@smmu.edu.cn

有蛋白质编码功能,直接以 RNA 的形式参与基因调控,但 2016 年 Nelson 等^[5]研究证实 lncRNA 也可以编码生成短肽,该短肽可竞争性抑制肌质网/内质网钙 ATP 酶抑制剂。目前人类基因中能确定的 lncRNA 约为 25 000 个^[6],但只有不到 1% 的 lncRNA 具有功能性^[7]。lncRNA 主要从以下 4 个层面参与基因表达调控^[8-9]:(1)表观遗传学水平。lncRNA 通常与 DNA、异染色质蛋白、组蛋白修饰酶及转录因子等结合而参与基因转录前水平调节。(2)转录水平。lncRNA 可以诱导染色质重塑或转录干扰影响邻近基因表达、调控转录因子活性、结合 RNA 结合蛋白而激活下游启动子区、调控 RNA 聚合酶 II 活性。(3)转录后水平。lncRNA 可以通过被剪切成非信使小 RNA (small non-messenger RNA, snmRNA)、调控 mRNA 前体的可变剪切、调节 mRNA 表达丰度和稳定性等参与基因转录后水平调控。(4)与某些微 RNA (microRNA, miRNA) 形成竞争性内源 RNA (competitive endogenous RNA, ceRNA) 调控网络。通过以上方式,一些 lncRNA 可以促进或抑制胃癌的 EMT。因此,与胃癌 EMT 相关的 lncRNA 成为近年胃癌研究的热点。

2 EMT 相关 lncRNA 与胃癌

2.1 HOX 转录反义 RNA (HOX transcript antisense RNA, HOTAIR) HOTAIR 定位于人类染色体 12q13.13 区域,来自 HOX 基因家族成员 HOXC 基因的反义链。HOTAIR 是第 1 个被证实具有反式作用的 lncRNA^[10-11]。Endo 等^[12]应用实时荧光定量 PCR 技术发现胃癌组织中 HOTAIR 的表达水平明显高于癌旁组织。随后将 HOTAIR 表达上调和下调的肿瘤细胞分别注入裸鼠尾静脉及腹腔中,结果显示注入 HOTAIR 表达上调的肿瘤细胞的裸鼠肝转移及腹膜转移的肿瘤数量和平均大小均明显大于对照组。Xu 等^[13]发现 HOTAIR 在胃癌组织中的表达显著上调,且表达水平与肿瘤的淋巴结转移及分期明显相关,同时统计学结果提示 HOTAIR 表达水平与患者术后生存率具有相关性;抑制 HOTAIR 表达后可以减少波形蛋白和基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) -9、MMP-1 的表达,同时上调 E-钙黏蛋白和紧密连接蛋白 1 (zonula occludens 1, ZO-1) 蛋白的表达,逆

转 EMT 过程,从而抑制胃癌细胞的侵袭,提示 HOTAIR 可能是一种参与 EMT 的多效性调节剂;沉默 HOTAIR 的胃癌细胞 AGS 转染 Snail 蛋白后,被逆转的 EMT 可以恢复,提示 HOTAIR 可能是通过 Snail 通路促进 EMT。另外 Liu 等^[14]的研究也发现无论是体内还是体外的胃癌细胞,在 HOTAIR 表达下调后肿瘤细胞的侵袭性和转移能力均显著下降,并且 EMT 过程发生逆转,原因是 HOTAIR 可以通过抑制 miRNA 如 miR-34a,激活 HGF/C-Met/Snail 信号通路促进 EMT。

2.2 lncRNA-H19 印记基因 H19 定位于人类染色体 11p15.5 区域,其编码的 lncRNA-H19 是第 1 个被发现与肿瘤相关的 lncRNA。H19 在胚胎形成时期广泛表达,出生后却在大多数组织中失去活性;而当肿瘤生成时,H19 可以重新恢复其表达活性^[15]。lncRNA-H19 在肿瘤发生过程中的作用具有双面性,如研究发现其在肝癌组织中呈低表达,有抑癌作用^[16];而在乳腺癌组织中却呈高表达状态,可以促进肿瘤增殖^[17]。H19 基因外显子还能编码 1 个 miRNA 分子,即 miR-675,因此 H19 的过表达能增强 miR-675 的表达水平,进而下调 E-钙黏蛋白,促进细胞迁移^[18]。还有研究表明在胃癌中 lncRNA-H19 也可以起到促进细胞增殖及转移的作用,因其与 miR-141 呈负性调控关系,可以通过抑制 miR-141 及其靶基因 ZEB1 表达而促进 EMT^[19]。

2.3 被转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 活化的长链非编码 RNA (lncRNA activated by TGF- β , lncRNA-ATB) lncRNA-ATB 定位于人类 14 号染色体,是第 1 个被证实能被 TGF- β 激活的 lncRNA,通过调节 TGF- β 竞争性结合 miR-200 家族并上调其靶基因 ZEB1 和 ZEB2 来促进 EMT。Saito 等^[20]检测了不同胃癌组织中 lncRNA-ATB、miR-200b、miR-200c、ZEB1 的表达水平,发现 lncRNA-ATB 表达水平显著升高,并且通过上调 TGF- β /miR-200s/ZEB 轴促进胃癌细胞的侵袭和转移;多变量分析结果显示 lncRNA-ATB 是一个独立的预后因子,可以作为一种新的生物标志物判断胃癌预后。另外 lncRNA-ATB 可以作为 ceRNA 直接结合 miR-141-3p,竞争性抑制其与下游 TGF- β 相关靶基因结合,从而实现 TGF- β 表达水平的调控,最终通过 miR-141-3p/TGF- β 正反馈调控环路来维持自

身持续高表达^[21]。

2.4 结肠癌相关转录子 2 (colon cancer-associated transcript 2, CCAT2) CCAT2 定位于人类染色体 8q24 区域, 由 Ling 等^[22]于 2013 年首次报道, 研究发现其在结直肠癌组织中高表达, 可以作为 Wnt 通路的下游靶基因促进结直肠癌细胞的增殖与转移。Wang 等^[23]研究发现 CCAT2 表达水平与胃癌的肿瘤大小、淋巴结转移和 TNM 分期有关, 沉默 CCAT2 可以有效抑制胃癌细胞迁移和侵袭。进一步研究发现, CCAT2 通过下调 E-钙黏蛋白表达及上调 ZEB2、波形蛋白和 N-钙黏蛋白表达促进胃癌细胞发生 EMT; CCAT2 与 *zeste* 基因增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2) 相互作用并因此调节 E-钙黏蛋白和大肿瘤抑制因子同源物 2 (large tumor suppressor homolog 2, LATS2) 表达。结果表明 CCAT2 在胃癌细胞中具有促癌作用并参与了胃癌进展。

2.5 Linc00261 Linc00261 定位于人类染色体 20p11.21 区域。Yu 等^[24]研究发现 linc00261 在胃癌组织和细胞系中表达减少, 而且低表达 linc00261 的胃癌患者预后相对较差。另外研究中发现 Slug 是 linc00261 的 RNA 结合蛋白, linc00261 可以通过降低 Slug 蛋白的稳定性下调 Slug 表达, 还可以通过增强糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β) 和 Slug 之间的相互作用促进 Slug 的降解, 从而抑制 EMT 进程, 缓解肿瘤进展^[24]。这提示我们或许可以通过上调 linc00261 的表达来抑制胃癌转移, 改善高侵袭性胃癌患者的预后。

2.6 LEIGC Han 等^[25]在 2014 年报道了一种在胃癌组织中显著下调的 lncRNA, 并将其命名为 LEIGC。他们通过过表达和沉默 LEIGC 观察其对胃癌细胞生长、分化、转移的影响, 发现 LEIGC 的过表达可以抑制胃癌细胞的增殖, 抑制胃癌细胞的 EMT, 并增强胃癌细胞对 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 的敏感性; 而沉默 LEIGC 后则出现相反结果。提示 LEIGC 可能作为肿瘤抑制因子在胃癌的发生和发展中起着重要作用。

2.7 其他 EMT 相关 lncRNA 除了以上 6 种与胃癌 EMT 过程相关的 lncRNA 外, 近年还有一些 lncRNA 被陆续报道与胃癌的 EMT 过程有密切联系, 比如 linc00152、SPRY4 内含子转录本

(SPRY4 intronic transcript 1, SPRY4-IT1)、锌指结构反义转录本 1 (zinc finger antisense 1, ZFAS1) 等^[26-28]。它们也可以通过各种途径调控胃癌的 EMT。

3 小 结

EMT 是一个复杂的、多途径的过程, 在肿瘤转移中扮演了重要角色, 甚至还能导致肿瘤细胞同源物耐药的发生^[29-30]。但其详细机制仍不十分清楚, 甚至有很多争议, 比如以前认为 EMT 是肿瘤转移的必需条件, 但 Fischer 等^[31]发现在乳腺癌肺转移小鼠模型中只有小部分肿瘤细胞发生 EMT, 而且肺转移灶主要由非 EMT 肿瘤细胞组成。LncRNA 可以通过与靶蛋白结合、作为 ceRNA 竞争 miRNA 等方式构成调控网络促进或抑制 EMT 过程。因此, 研究 EMT 相关 lncRNA 在胃癌侵袭、转移中的作用和机制, 寻找新的针对 EMT 的靶向治疗策略, 对提高胃癌的治疗水平将产生深远影响。

[参 考 文 献]

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, SIEGEL R L, TORRE L A, JEMAL A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68: 394-424.
- [2] TIRINO V, DESIDERIO V, PAINO F, DE ROSA A, PAPACCIO F, LA NOCE M, et al. Cancer stem cells in solid tumors: an overview and new approaches for their isolation and characterization[J]. FASEB J, 2013, 27: 13-24.
- [3] ZAVADIL J, HALEY J, KALLURI R, MUTHUSWAMY S K, THOMPSON E. Epithelial-mesenchymal transition[J]. Cancer Res, 2008, 68: 9574-9577.
- [4] TANIA M, KHAN M A, FU J. Epithelial to mesenchymal transition inducing transcription factors and metastatic cancer[J]. Tumour Biol, 2014, 35: 7335-7342.
- [5] NELSON B R, MAKAREWICH C A, ANDERSON D M, WINDERS B R, TROUPES C D, WU F, et al. A peptide encoded by a transcript annotated as long noncoding RNA enhances SERCA activity in muscle[J]. Science, 2016, 351: 271-275.
- [6] TYE C E, GORDON J A, MARTIN-BULEY L A, STEIN J L, LIAN J B, STEIN G S. Could lncRNAs be the missing links in control of mesenchymal stem cell differentiation?[J]. J Cell Physiol, 2015, 230: 526-534.
- [7] MITRA S A, MITRA A P, TRICHE T J. A central role for long non-coding RNA in cancer[J/OL]. Front Genet, 2012, 3: 17. doi: 10.3389/fgene.2012.00017.

- [8] SATI S, GHOSH S, JAIN V, SCARIA V, SENGUPTA S. Genome-wide analysis reveals distinct patterns of epigenetic features in long non-coding RNA loci[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 10018-10031.
- [9] MARTIANOV I, RAMADASS A, SERRA BARROS A, CHOW N, AKOULITCHEV A. Repression of the human dihydrofolate reductase gene by a non-coding interfering transcript[J]. *Nature*, 2007, 445: 666-670.
- [10] RINN J L, KERTESZ M, WANG J K, SQUAZZO S L, XU X, BRUGMANN S A, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2007, 129: 1311-1323.
- [11] SHAH N, SUKUMAR S. The *Hox* genes and their roles in oncogenesis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10: 361-371.
- [12] ENDO H, SHIROKI T, NAKAGAWA T, YOKOYAMA M, TAMAI K, YAMANAMI H, et al. Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer[J/OL]. *PLoS One*, 2013. doi:10.1371/journal.pone.007707.
- [13] XU Z Y, YU Q M, DU Y A, YANG L T, DONG R Z, HUANG L, et al. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR suppresses tumor invasion and reverses epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer[J]. *Int J Biol Sci*, 2013, 9: 587-597.
- [14] LIU Y W, SUN M, XIA R, ZHANG E B, LIU X H, ZHANG Z H, et al. LincHOTAIR epigenetically silences miR34a by binding to PRC2 to promote the epithelial-to-mesenchymal transition in human gastric cancer[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1802. doi:10.1038/cddis.2015.150.
- [15] LOTTIN S, ADRIAENSSENS E, DUPRESSOIR T, BERTEAUX N, MONTPELLIER C, COLL J, et al. Overexpression of an ectopic *H19* gene enhances the tumorigenic properties of breast cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23: 1885-1895.
- [16] ZHANG L, YANG F, YUAN J H, YUAN S X, ZHOU W P, HUO X S, et al. Epigenetic activation of the miR-200 family contributes to H19-mediated metastasis suppression in hepatocellular carcinoma[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34: 577-586.
- [17] BERTEAUX N, LOTTIN S, MONTÉ D, PINTE S, QUATANNENS B, COLL J, et al. H19 mRNA-like noncoding RNA promotes breast cancer cell proliferation through positive control by E2F1[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 29625-29636.
- [18] MATOUK I J, RAVEH E, ABU-LAIL R, MEZAN S, GILON M, GERSHTAIN E, et al. Oncofetal H19 RNA promotes tumor metastasis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843: 1414-1426.
- [19] ZHOU X, YE F, YIN C, ZHUANG Y, YUE G, ZHANG G. The interaction between miR-141 and lncRNA-H19 in regulating cell proliferation and migration in gastric cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36: 1440-1452.
- [20] SAITO T, KURASHIGE J, NAMBARA S, KOMATSU H, HIRATA H, UEDA M, et al. A long non-coding RNA activated by transforming growth factor-beta is an independent prognostic marker of gastric cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22: 915-922.
- [21] LEI K, LIANG X, GAO Y, XU B, XU Y, LI Y, et al. Lnc-ATB contributes to gastric cancer growth through a miR-141-3p/TGFβ2 feedback loop[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 484: 514-521.
- [22] LING H, SPIZZO R, ATLASI Y, NICOLOSO M, SHIMIZU M, REDIS R S, et al. CCAT2, a novel noncoding RNA mapping to 8q24, underlies metastatic progression and chromosomal instability in colon cancer[J]. *Genome Res*, 2013, 23: 1446-1461.
- [23] WANG Y J, LIU J Z, LV P, DANG Y, GAO J Y, WANG Y. Long non-coding RNA CCAT2 promotes gastric cancer proliferation and invasion by regulating the E-cadherin and LATS2[J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6: 2651-2660.
- [24] YU Y, LI L, ZHENG Z, CHEN S, CHEN E, HU Y. Long non-coding RNA linc00261 suppresses gastric cancer progression via promoting Slug degradation[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21: 955-967.
- [25] HAN Y, YE J, WU D, WU P, CHEN Z, CHEN J, et al. LEIGC long non-coding RNA acts as a tumor suppressor in gastric carcinoma by inhibiting the epithelial-to-mesenchymal transition[J/OL]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 932. doi: 10.1186/1471-2407-14-932.
- [26] ZHAO J, LIU Y, ZHANG W, ZHOU Z, WU J, CUI P, et al. Long non-coding RNA Linc00152 is involved in cell cycle arrest, apoptosis, epithelial to mesenchymal transition, cell migration and invasion in gastric cancer[J]. *Cell Cycle*, 2015, 14: 3112-3123.
- [27] XIE M, NIE F Q, SUN M, XIA R, LIU Y W, ZHOU P, et al. Decreased long noncoding RNA SPRY4-IT1 contributing to gastric cancer cell metastasis partly via affecting epithelial-mesenchymal transition[J/OL]. *J Transl Med*, 2015, 13: 250. doi: 10.1186/s12967-015-0595-9.
- [28] ZHOU H, WANG F, CHEN H, TAN Q, QIU S, CHEN S, et al. Increased expression of long-noncoding RNA ZFAS1 is associated with epithelial-mesenchymal transition of gastric cancer[J]. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8: 2023-2035.
- [29] ARUMUGAM T, RAMACHANDRAN V, FOURNIER K F, WANG H, MARQUIS L, ABBRUZZESE J L, et al. Epithelial to mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer[J]. *Cancer Res*, 2009, 69: 5820-5828.
- [30] BLICK T, HUGO H, WIDODO E, WALTHAM M, PINTO C, MANI S A, et al. Epithelial mesenchymal transition traits in human breast cancer cell lines parallel the CD44^{hi}CD24^{lo/-} stem cell phenotype in human breast cancer[J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2010, 15: 235-252.
- [31] FISCHER K R, DURRANS A, LEE S, SHENG J, LI F, WONG S T, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is not required for lung metastasis but contributes to chemoresistance[J]. *Nature*, 2015, 527: 472-476.