

长链非编码 RNA HULC 在肿瘤中作用的研究进展

李倩¹, 何杰²

(1.安徽医科大学研究生学院,安徽合肥 230032;2.中国科学技术大学附属第一医院西区(安徽省肿瘤医院)病理科,安徽合肥 230031)

摘要:近年来随着分子生物学研究的迅猛发展,长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 越来越受到高度重视,它在肿瘤发生、发展、治疗和预后等方面所发挥的作用也逐渐被深入认知.肝癌高表达转录本 (highly up-regulated in liver cancer, HULC) 是 lncRNA 的一种,最先在肝癌中被发现,近年研究揭示它与其他许多癌症,例如胃癌、结肠直肠癌、骨肉瘤和弥漫性大 B 细胞淋巴瘤等,也密切相关.本文主要对 HULC 在几种不同肿瘤组织中的表达情况及其作用机制的研究进展做一综述.

关键词:长链非编码 RNA;肝癌高表达转录本(HULC);肿瘤

中图分类号: R730.231 **文献标识码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.0253-2778.2018.10.007

引用格式: 李倩,何杰.长链非编码 RNA HULC 在肿瘤中作用的研究进展[J].中国科学技术大学学报,2018,48(10):810-813,837.

LI Qian, HE Jie. Research progress on the role of lncRNA HULC in tumors[J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2018,48(10):810-813,837.

Research progress on the role of lncRNA HULC in tumors

LI Qian¹, HE Jie²

(1. Graduate School, Anhui Medical University, Hefei 230032, China;

2. Department of Pathology, West District of The First Affiliated Hospital of USTC (Anhui Provincial Cancer Hospital), Hefei 230031, China)

Abstract: In recent years, with the rapid development of molecular biology research, increasing attention has been paid to long non-coding RNA (lncRNA), whose role in tumor occurrence, development, treatment and prognosis has also been gradually recognized. HULC (highly up-regulated in liver cancer) is a type of lncRNA called liver cancer highly expressed transcript, which was first discovered in liver cancer. Recent studies have revealed that it is also closely related to many other cancers such as gastric cancer, colorectal cancer, osteosarcoma and diffuse large B-cell lymphomas. This paper reviewed the research progress of HULC expression and its mechanism of action in several different tumor tissues.

Key words: lncRNA; highly up-regulated in liver cancer (HULC); tumor

收稿日期: 2018-05-17; **修回日期:** 2018-06-28

基金项目: 国家自然科学基金(81272800)资助.

作者简介: 李倩,女,1988年生,硕士生.研究方向:肿瘤学.E-mail:liqian2017twins@163.com

通讯作者: 何杰,博士/教授,主任医师,博士生导师,中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)病理科副主任、分子病理科主任,中国科学技术大学附属第一医院西区(安徽省肿瘤医院)病理科主任,安徽省“江淮名医”,安徽省百优医师.担任中国临床肿瘤学会肿瘤病理专家委员会委员、中华医学会安徽省肿瘤学分会肿瘤病理分子诊断学组组长、安徽省医师协会病理专业委员会常委、安徽省病理学会委员、中国抗癌协会肿瘤病因专业组委员、中国抗癌协会肿瘤病理专业委员会委员、中国抗癌协会常务理事、安徽省抗癌协会神经肿瘤专业组副主委.主要研究领域为肿瘤分子生物学.承担国家自然科学基金项目和省级课题基金项目.发表 SCI 论文 27 篇,国内期刊论文数十篇. E-mail:hejie23@ustc.edu.cn



0 引言

由于恶性肿瘤(癌症)严重威胁人类的健康与生命,因此世界各国均投入大量人力物力从事癌症研究.肿瘤的出现常伴有异常的转录发生,其中蛋白质编码基因水平的异常已被研究得比较透彻,但人类基因组非编码区域的异常表达仍未清楚.其中包括近年来的研究热点——长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA).它是一类长度大于 200 个核苷酸的转录 RNA 分子的统称^[1].研究表明, lncRNA 参与多种细胞过程,包括增殖、凋亡、迁移和侵袭,在许多人类疾病中起着调节因子的作用.例如,乳腺癌雌激素受体 4(BCAR4)通过非典型的 Hedgehog / GLI2 途径促进雌激素抵抗并促进乳腺癌增殖和转移^[2].本文重点介绍 lncRNA 的一种——肝癌高表达转录本 (highly up-regulated in liver cancer, HULC),虽然它最先在肝癌中发现高表达,但随后发现在其他肿瘤中也有显著异常表达.在这篇综述中,我们总结了目前关于 HULC 在癌症研究中的进展,它可能作为肿瘤诊断和预后监测的生物标志物,很值得期待.

1 HULC 概述

HULC 首次是在肝癌中被发现并以此命名,现有许多研究证实在其他如胰腺癌、胃癌等多种肿瘤中也涉及不同程度的 HULC 异常表达^[3-4].该基因全长 500nt,定位于 6p24.3,含有一个内含子和两个外显子,其中内含子长度为 1152bp,两个外显子大小分别为 182bp 和 303bp.在小鼠和大鼠中均未发现 HULC 的同源基因,但在与人类同源性更高的黑猩猩中则存在保守的 HULC 同源序列.HULC 基因转录产物经过剪切和加工后形成一个 500bp 的 RNA,具有类似于 mRNA 的 poly A 尾结构.Panzitt 等^[5]发现 HULC 有以下表征:① HULC 序列不能清楚地识别实质性的开放阅读框;② 体外翻译不产生任何可检测的蛋白质产物;③ 针对预测的 HULC 蛋白产生的多克隆抗体在表达高水平 HULC RNA 的 HCC 组织中未显示出阳性反应;④ 原核和真核蛋白表达系统都不能产生 HULC 编码的蛋白;⑤ 蛋白只有 HULC 序列融合到 C-末端而不融合到 GFP 的 N-末端时才可用抗体检测.因此,这进一步证实了 HULC 是一种长链非编码 RNA.

2 HULC 的作用机制

虽然目前大量研究已证实 HULC 在多种肿瘤中有不同程度的 HULC 异常表达,但对 HULC 的生理功能及分子机制的了解并不多,仍有待探讨研究.综合目前已知的相关报道,可总结如下.

2.1 HULC 作为 miRNAs 的海绵/诱饵,用于调控 miRNAs 水平和基因表达

这一机制是目前研究比较成熟的.如 Wang 等^[6]发现 HULC 启动子区域包括 cAMP 反应区结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)结合位点,且 CREB 参与 HULC 启动子的激活.在多种诱因下,cAMP 使蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 活化.活化后 PKA 的调节亚基和催化亚基(cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit beta, PRKACB)分离,其中 PRKACB 从细胞质被转运至细胞核,使 CREB 转录因子磷酸化.磷酸化的 CREB 结合到 HULC 近端启动子区从而激活 HULC 基因转录.转录出的 lncRNA HULC 像内源性的“microRNA 海绵”,特异性地与 microRNA-372 结合,使 microRNA-372 的表达和活性下降.由于 miR-372 与 PRKACB 的 mRNA 3'-非编码区具有共同靶点,miR-372 与目的 mRNA 结合会抑制蛋白翻译.microRNA-372 的表达和活性下降会使其对 mRNA 的抑制作用减弱,翻译产物 PRKACB 增多,进一步使磷酸化的 CREB 增多.所以 HULC 表达是自动调节环的一部分,其中它抑制 miR-372 的表达和活性,从而允许在肝癌中建立 lncRNA HULC 上调表达.

Ma 等^[7]发现 HULC 的敲低可削弱其靶基因的翻译抑制, RNA 免疫沉淀(RIP)和 RNA Pull Down 实验表明,HULC 可通过与介导 TNF- α 诱导凋亡的 DNA 甲基转移酶相关来抑制 miR-9 的表达.

2.2 HULC 启动子通过结合转录因子来调节自身的表达水平

Hämmerle 等^[8]证明 HULC 可通过与 IGF2 mRNA 结合蛋白 1(IGFBP1)结合而在转录后受到不稳定调节.从机制上看,IGFBP1 的结合通过招募 CNOT1 蛋白(其是人类 CCR4-NOT 去腺苷酶复合物的支架)来降低 HULC 的半衰期和稳态表达水平.这些发现表明,IGF2BP1 可能通过促进 HULC 去腺苷化来诱导 HULC 降解,但仍需进一步研究.

2.3 HULC 促进上皮-间质转化

上皮-间质转化(EMT)在肿瘤进展和转移中发挥关键作用.EMT 是上皮细胞获得间质特性的过程,其特征在于细胞间粘附减少,运动性和侵袭性提高.在肝癌中已经证实 EMT 和 HULC 之间正调控,其表现为 EMT 的上皮标志物(例如 E-钙粘蛋白)的下调和间充质标志物(例如波形蛋白)的上调^[9].

2.4 HULC 可能作为 1 个反式作用因子参与调控其邻近基因 SLC35B3 的表达

Du 等^[10]通过检测 HULC 所在的 6p24.3 区域的编码基因,发现 HULC 基因附近存在 SLC35B3 和抑癌基因 p18 两个编码基因.李丹等^[11]通过小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 下调 Hep3B 和 Hep G2 等肝癌细胞中 HULC 的表达,发现其邻近基因 SLC35B3 的表达也随之下降.这提示 lncRNA HULC 可能作为 1 个反式作用因子参与调控其邻近基因 SLC35B3 的表达,但此功能还需要进一步的深入研究.

当然,目前对 HULC 作用机制的研究还是冰山一角,还有很大的探究潜力,而且它在不同肿瘤中的作用机制也不尽相同,如下文中将提到的 HULC 可影响肿瘤细胞周期、血管形成等.

3 HULC 在恶性肿瘤中的作用

3.1 HULC 与肝癌(human hepatocellular carcinoma, HCC)

lncRNA HULC 在肝细胞中特异性表达于 2007 年经基因芯片证实后,随着研究的深入,科研工作者发现 HULC 可上调锌指 E 盒结合同源框 1 (ZEB1)介导 EMT,然后再通过 miR-200a-3p/ZEB1 信号传导途径促进肿瘤进展和转移,并指出 HULC 在 HCC 组织中的异常表达与肿瘤的 TNM 分期、肝内转移、HCC 复发和术后生存相关^[12].Wan 等^[13]研究发现,HULC 的异常活性可通过 miR-107 /转录因子 E2F1 /鞘氨醇激酶 1(SPHK1)信号转导调控人类肝脏干细胞分化和肿瘤血管生成,从而促进肝癌的发生.这些发现暗示 HULC 可能是 HCC 起始和进展中的关键因素,是 HCC 潜在的治疗靶标.

3.2 HULC 与胃癌(gastric cancer, GC)

Zhang 等^[14]使用定量实时聚合酶链反应(qRT-PCR)发现 HULC 在 GC 患者中高表达,通过 Kaplan-Meier 生存分析证实 HULC 表达与存活率之间的关系,发现 HULC 高表达表明存活率较低;

同时指出 HULC 的升高表达可介导癌细胞增殖和侵袭,并通过激活自噬抑制细胞凋亡,HULC 敲低可增强顺铂化疗诱导的 GC 细胞凋亡. Jin 等^[15]发现 HULC 在血清中的过表达与肿瘤大小、淋巴结转移、远处转移、TNM 分期和幽门螺杆菌感染有关.这意味着 HULC 可作为血清肿瘤标志物用于诊断和监测预后的生物学指标,但仍需要进行大量的努力来探索其潜在机制.

3.3 HULC 与结肠癌(colorectal cancer, CRC)

Yang 等^[16]证实 HULC 在 CRC 组织和细胞中上调,HULC 的消耗抑制了 CRC 细胞体内的致癌性,并且在体外抑制了 CRC 细胞的增殖、迁移和侵袭并诱导细胞凋亡;并指出 HULC 与 CRC 患者预后差和生存期短有关.另外, RNA 免疫沉淀(RIP)和 RNA Pull Down 证明了 HULC 可以与 EZH2 相互作用以抑制潜在的靶标 NKD2 转录,其致癌功能部分依赖于抑制 NKD2.结果暗示 HULC 将是 CRC 的重要生物标志物和有用的治疗靶点.HULC 在结肠癌中的表达和生物学行为和胃癌中相似,但其具体机制仍有待深入探究.

3.4 HULC 与其他肿瘤

Sun 等^[17]研究发现,HULC 在骨肉瘤(OS)组织和细胞系中与正常对照相比显著上调.通过用小干扰 RNA 抑制 HULC 的表达进行功能实验显示,细胞的增殖、迁移和侵袭能力都明显受抑制.另外,表达 HULC 患者的肿瘤通常表现出更强的侵袭行为和转移潜能.他们还报道,HULC 水平与骨肉瘤(OS)患者的临床分期、远处转移、预后和生存率相关.HULC 是一种参与骨肉瘤进展的新型分子,可能为骨肉瘤介入治疗的预后不良和潜在治疗靶点提供新的标志.

Yan 等^[18]通过 qRT-PCR 发现人脑胶质瘤组织中 HULC 的表达水平明显高于癌旁组织,胶质瘤细胞中 HULC 也是较高表达.他们通过细胞功能试验发现 HULC 可以促进胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,并促进血管形成.Zhu 等^[19]的研究进一步发现,HULC、血管内皮生长因子(VEGF)和内皮细胞特异性分子 1(ESM-1)以及微血管密度与胶质瘤患者组织的病理分期呈正相关.他们指出,ESM-1 参与 PI3K/Akt/mTOR(磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B/雷帕霉素)信号通路机制目标可诱导失巢凋亡并阻断胶质瘤 G1 / S 期的细胞周期进程,从而改变肿瘤相关基因的表达.这些发现暗示 HULC 可以作为神

经胶质瘤治疗中潜在的治疗靶点。

Peng 等^[20]证实 HULC 在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 组织和细胞系中均显著过表达, HULC 表达与 DLBCL 特征密切相关, 如 Ann Arbor 分期、B 症状、CHOP 方案(环磷酰胺、多柔比星、长春新碱和泼尼松)治疗、利妥昔单抗治疗和国际预后指数 (IPI)。另外, 大量长期随访样本表明, HULC 可作为 DLBCL 患者的独立诊断和预后指标。此外, HULC 耗竭通过抑制 cyclin D1 和 Bcl-2 在 DLBCL 细胞中的表达从而显著抑制细胞增殖和促进细胞凋亡, 以 HULC 为靶点可能成为 DLBCL 患者的一种潜在的基因治疗手段。

另外也有研究结果显示, HULC 在胰腺癌 (PC) 组织中的表达明显高于癌旁正常组织, 并且 HULC 的高表达与患者的肿瘤大小、晚期淋巴结转移呈显著正相关^[21]。Taucher 等^[22]报道, HULC 水平与 PC 患者总体生存期和 PC 的复发有显著相关性。此外, 多变量分析证实 HULC 可能是总生存期的独立预测因素 ($P = 0.032$)^[21], Kaplan-Meier 分析显示 HULC 表达高低的患者之间存在显著差异。因此, HULC 可作为高度敏感的筛查生物标志物和 PC 患者的潜在治疗靶点。

4 结论与展望

lncRNAs 影响各种生物学过程的基本分子机制, 包括染色质组织、表观遗传调控、基因转录和翻译、RNA 转换和基因组防御等, 已经被广泛地研究。随着基因芯片、基因组学和高通量测序等技术的发展, 越来越多的 lnc RNA 分子被发现, 其中包括 HULC。HULC 已经在许多癌症中被发现, 并扮演着促癌基因的角色, 介导癌细胞的增殖、凋亡、侵袭和转移。但目前对 HULC 的研究主要集中在表征上, 其导致癌症进展的潜在分子机制并不十分清楚, 仍需深入研究。值得欣慰的是, 对 HULC 的进一步研究可以为癌症的诊断和治疗带来新的见解, 尽管其在癌症预防和治疗方面的临床意义还有很长的路要走。相信在不久的将来, HULC 可以作为肿瘤的治疗靶点和预后标志物, 为广大临床肿瘤患者的诊治带来福音。

参考文献 (References)

[1] SANCHEZ-ELSNER T, GOU D, KREMMER E, et al. Noncoding RNAs of trithorax response elements

recruit Drosophila Ash1 to ultrabithorax[J]. Science, 2006, 311:1118-1123.

- [2] GODINHO M F, WULFKUHLE J D, LOOK M P, et al. BCAR4 induces antioestrogen resistance but sensitises breast cancer to lapatinib[J]. Br J Cancer, 2012, 107:947-955.
- [3] PENG W, GAO W, FENG J. Long noncoding RNA HULC is a novel bi-omarker of poor prognosis in patients with pancreatic cancer[J]. Med Oncol, 2014, 31(12): 346.
- [4] JIN C, SHI W, WANG F, et al. Long non-coding RNA HULC as a novel serum biomarker for diagnosis and prognosis prediction of gastric cancer [J]. Oncotarget, 2016, 7(32):51763-51772.
- [5] PANZITT K, TSCHERNATSCH M M O, GUELLY C, et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA[J]. Gastroenterology, 2007, 132(1): 330-342.
- [6] WANG J, LIU X, WU H, et al. CREB upregulates long non-coding RNA, HULC expression through interaction with microRNA-372 in liver cancer [J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(16): 5366-5383.
- [7] MA Y, HUANG D, YANG F, et al. Long noncoding RNA highly upregulated in liver cancer regulates the tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis in human vascular endothelial cells[J]. DNA Cell Biol, 2016, 35(6): 296-300.
- [8] HÄMMERLE M, GUTSCHNER T, UCKELMANN H, et al. Posttranscriptional destabilization of the liver-specific long noncoding RNA HULC by the IGF2 mRNA-binding protein 1 (IGF2BP1)[J]. Hepatology, 2013, 58: 1703-1712.
- [9] GANDHY S U, IMANIRAD P, JIN U H, et al. Specificity protein (Sp) transcription factors and metformin regulate expression of the long non-coding RNA HULC[J]. Oncotarget, 2015, 6:26359-26372.
- [10] DU Y, KONG G, YOU X, et al. Elevation of highly up-regulated in liver cancer (HULC) by hepatitis B virus X protein promotes hep-atoma cell proliferation via down-regulating p18[J]. J Biol Chem, 2012, 287(31): 26302-26311.
- [11] 李丹, 宋咏梅, 詹启敏. HULCRNA 在肝癌细胞中的表达及其对邻近基因 SLC35B3 表达的影响[J]. 中华医学杂志, 2010, 90(44):3156-3159.
- LI Dan, SONG Yongmei, ZHAN Qimin. Specifically up-regulated non-coding RNA gene HULC in tumor cell lines and its effects on the expression of neighboring gene SLC35B3 [J]. National Medical Journal of China, 2010, 90(44):3156-3159.

(下转第 837 页)