

长链非编码 RNA 在胆囊癌中作用的研究进展

白超, 李志强, 南尚林(综述), 刘建生(审校)

作者单位: 030012 太原,山西医科大学第一医院普外科

作者简介: 白超(1991-),男,在读研究生,研究方向:肝胆胰外科疾病的诊治。E-mail:444175149@qq.com

通讯作者: 刘建生(1953-),男,医学博士,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:肝胆胰外科疾病的诊治。E-mail:147542533@qq.com

[摘要] 胆囊癌是胆道系统中最常见且具有高度侵袭性的恶性肿瘤。根治性手术是原发性胆囊癌患者早期可能获得治愈的唯一方法,然而大多数胆囊癌都是在发病的晚期才诊断出来,并且传统化疗对于胆囊癌的治疗帮助非常有限,对总体生存率影响不大。随着胆囊癌分子生物学机制研究的日益完善,越来越多的证据表明长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)与胆囊癌的发生发展密切相关,在肿瘤细胞凋亡调控、肿瘤浸润与转移等过程中发挥着促癌或抑癌作用,针对 lncRNA 靶向诊断或治疗胆囊癌的研究显示出广阔的发展前景。该文综述了近些年来 lncRNA 在胆囊癌中的研究进展,希望为胆囊癌提供新的治疗靶点,提高并改善胆囊癌的化疗效果。

[关键词] 胆囊癌; 长链非编码 RNA; 分子生物学; 研究进展

[中图分类号] R 735.8 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2018)10-1049-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2018.10.28

Advances of long non-coding RNA in gallbladder cancer BAI Chao, LI Zhi-qiang, NAN Shang-lin, et al. Department of General Surgery, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, China

[Abstract] Gallbladder cancer is the most common and aggressive malignancy of the biliary tract. Complete surgical resection is the only potentially curative approach in early stage. However, most cases are diagnosed in advanced stages and the response to traditional chemotherapy and radiotherapy is extremely limited, with a modest impact on overall survival. With the recent progress in understanding the molecular alterations of gallbladder cancer, long non-coding RNAs (lncRNAs) has emerged as the key regulators of gene expression and appears to play vital roles in the regulation of multiple cellular biological processes, including apoptosis, tumor invasion and metastasis. lncRNA is hopefully to become a new type of molecular marker and therapeutic target in the diagnosis and treatment of gallbladder cancer. This review discusses the recent remarkable progress in understanding lncRNAs that represent novel prognosis molecular markers and therapeutic targets for gallbladder cancer, which will provide opportunities for research and for developing innovative strategies that may enhance the benefit of conventional chemotherapy.

[Key words] Gallbladder cancer; Long non-coding RNA (lncRNA); Molecular biology; Research progress

胆囊癌是一种发病率位列消化道肿瘤第6位的恶性肿瘤。在我国,胆囊癌发病率占同期胆道疾病的0.4%~3.8%,患者5年总体生存率约为5%^[1~3]。胆囊癌好发于50岁以上的中老年女性,其恶性程度高,预后差。基于胆囊癌的TNM分期的外科手术是当前胆囊癌的主要治疗方法^[4,5]。原发性胆囊癌患者唯一可能获得治愈的方法是根治性手术,但胆囊癌发病隐匿,临床症状不典型,早期诊断率低,临床上80%以上的患者在明确诊断时已属中晚期,手术根治率低^[6]。对于胆囊癌的诊断,除了依靠临床表现(如右季肋区疼痛、包块、黄疸等)和实验室检查(主要是超声、内镜、CT、MRI等影像学等)外,

传统的临床病理学指标对胆囊癌的鉴别和预后判断的作用有限。随着表观遗传学的发展,越来越多的研究发现了 lncRNA 在胆囊癌中的异常表达及其在肿瘤发病生理及病理过程中扮演的重要角色,这提示 lncRNA 有望成为判断胆囊癌诊断和预后的新标准。

1 lncRNA 的概述

在哺乳动物的基因组中,只有不到2%的基因编码蛋白质^[7],其余不编码蛋白质的序列称为非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA),ncRNA 根据其长度不同被分为两类,其中长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是由 RNA 聚合酶 II (Pol II) 合成,长度超过200碱基对的非编码蛋白质 RNA 序

列^[8],其生物学功能非常广泛,可通过转录、转录后翻译及表观遗传学等多种方式参加基因的表达调控,进而影响细胞凋亡、细胞周期、细胞增殖及分化等^[9]。LncRNA 按照基因组定位及编码蛋白的情况分为 5 种类型^[7]:(1)正义 LncRNA,位于编码蛋白基因相同链;(2)反义 LncRNA,位于编码蛋白基因不同链;(3)双向 LncRNA,转录时向编码蛋白基因最近的 LncRNA 方向分散或聚集;(4)内含子 LncRNA,位于编码蛋白基因内含子内;(5)基因间 LncRNA,位于 2 个编码蛋白基因间区域。当前越来越多的研究^[10,11]发现 LncRNA 在肿瘤的发生和发展中起着重要作用。本文主要综述了 LncRNA 在胆囊癌中的研究现状。

2 EMT 进程相关 LncRNA 与胆囊癌

上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是一种发育过程,对胚胎发育、伤口愈合、器官纤维化和肿瘤转移等起到至关重要作用。肿瘤相关 EMT 不仅是肿瘤获得迁移和侵袭能力的简单过程,还是复杂而全面的重新编程,这过程包括代谢、表观遗传学和细胞分化的参与,分化的上皮癌细胞通过 EMT 进程逆转到为未分化状态,不仅表达干细胞标记,而且还获得干细胞样功能^[12]。目前已知 LncRNA 可以影响胆囊癌细胞的 EMT 进程改变癌细胞侵袭和迁移能力。LINC00152 是一个长度为 828 bp 定位于染色体 2p11.2 的基因,最早在肝癌中由于其去甲基化差异而被发现^[13]。Zhao 等^[14]在随后的研究中证明 LINC00152 参与胃癌细胞 EMT 过程并且促进胃癌细胞转移上皮细胞-间充质转化。在胆囊癌中,Cai 等^[15]研究证明 LINC00152 在胆囊癌中表达异常升高,且其高表达与患者的预后呈正相关。在随后的细胞实验中,LINC00152 表达量改变对胆囊癌细胞的迁移,侵袭,及 EMT 过程影响明显。并发现 LINC00152 与 miR-138 有相互抑制作用,故推测 LINC00152 可能起到类似“海绵”的作用,吸附于 miR-138 产生类似于竞争性内源 RNA 作用抑制 miR-138 表达,从而导致 miR-138 对于下游 HIF-1 α (低氧诱导因子-1)基因抑制作用的解除,影响胆囊癌细胞的迁移、侵袭和 EMT 进程。LncRNATUG1 (taurine up-regulated 1)最早发现于被上调牛磺酸受体小鼠视网膜细胞中,其定位于染色体 22q12.2,长度为 7 598 bp^[16]。TUG1 被发现作为一个竞争性内源 RNA 在人类的多种肿瘤中表达上调,如恶性胶质瘤、肝癌、胃癌、乳腺癌等。Ma 等^[17]研究发现,相比癌旁组织,胆囊癌细胞中的 TUG1 基因表达显著增

加,虽然高表达的 TUG1 基因与胆囊癌的转移程度相关性较大,但对于肿瘤直径大小的影响较小。在细胞实验中,敲除 TUG1 基因后,胆囊癌细胞的侵袭能力受到明显抑制,但与细胞凋亡关系不大,故推测 TUG1 通过类似“海绵”的吸附作用结合并负性调节 miR-300 基因影响胆囊癌细胞的增殖、侵袭及 EMT 进程。Lnc H19 是一个长度约为 2.3 kb 定位于人染色体 11p15.5 具有高度保守性的基因,其被发现在哺乳动物发育中起重要作用^[18]。大量研究^[18,19]表明,H19 在多种肿瘤中表达量显著升高,如神经胶质瘤、胃癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌等。在胆囊癌中,H19 在胆囊癌组织与癌旁组织相比表达量显著升高,且与肿瘤组织的大小及预后显著相关。Wang 等^[18]在细胞实验中发现,敲除 H19 基因可抑制胆囊癌 NOZ 细胞进入细胞 S 期,从而使细胞周期阻滞。过表达 H19 基因可以导致 E-cad 蛋白表达量减少,vimentin 蛋白表达增加从而增强胆囊癌细胞的侵袭转移能力。作者推测 H19 起到竞争性内源 RNA 作用抑制 miR-194-5p 基因表达,然后激活下游靶基因 AKT2 影响细胞周期^[18]。Wang 等^[19]在另一项研究中观察到 H19 基因的表达水平与 miR-342-3p 呈负相关,H19 可通过负向调节 miR-342-3p 基因增强 Foxm1 表达从而促使胆囊癌发病。LncRNAUCA1 (urothelial carcinoma associated 1)定位于染色体 19p13.12 的 LncRNA,其最早在人膀胱移行细胞癌中被发现^[20]。UCA1 基因在细胞质中类似“海绵”的作用,通过结合 miRNA 的应答元件,直接抑制靶蛋白的表达。同时,UCA1 在人体许多肿瘤的发生中有致癌作用,如非小细胞肺癌、肝癌等。Cai 等^[21]在对 45 例胆囊癌患者分析后发现 UCA1 基因在胆囊癌细胞中表达量升高显著,高表达的 UCA1 与胆囊癌的肿瘤体积、淋巴结转移程度、TNM 分期及预后呈正相关。LncRNA UCA1 通过结合 EZH2 基因来调节肿瘤抑制因子 P21 和 E-cad 的启动子,使其转录物减慢,表达量降低,进而促进胆囊癌细胞的增殖、侵袭及 EMT 进程,促进胆囊癌发展。

3 细胞增殖、凋亡、周期相关 LncRNA 与胆囊癌

相比于上皮细胞-间充质转化进程,LncRNA 对于胆囊癌细胞增殖、凋亡、周期的调控同样是影响其发生及进展的重要因素。LncRNA MEG3 是位于印迹 DLK-MEG3 位点的印迹基因长度为 1.6 kb,10 个外显子位于染色体 14q32.3^[22]。在人体中,MEG3 基因在不同种类细胞中普遍表达,并且在细胞发展和成长中起着重要的作用^[23]。相关研究^[24,25]发现,

MEG3 基因能通过提高各种抑癌基因的表达如 p53, ARF, PTEN, BRCA1 调节细胞凋亡和细胞增殖, 且与 VEGF 途径相关基因相互作用并抑制肿瘤血管生成、侵袭和转移^[26]。MEG3 同样在许多肿瘤如胶质瘤、胃癌、肝癌和膀胱癌中表达下降。Liu 等^[27] 对 84 对胆囊癌病例研究后发现, 相比癌旁组织, MEG3 的表达量在癌组织中明显降低。其降低原因可能是由于癌细胞中 MEG3 启动子的甲基化导致 MEG3 表达缺失进而促进细胞增殖^[22]。用质粒过表达 MEG3 基因可以抑制胆囊癌细胞增殖及诱导细胞凋亡, 但 MEG3 作为胆囊癌潜在的治疗靶点和生物学标志物还需要进一步研究。LncRNA GCASPC (gallbladder cancer-associated suppressor of pyruvate carboxylase) 是一个新发现的在胆囊癌中表达差异较大的 LncRNA^[28], GCASPC 蛋白定位于胆囊癌细胞的细胞质中且与丙酮酸羧化酶相关联, 其可以降解细胞中丙酮酸羧化酶蛋白来降低细胞中该蛋白的水平, 从而反向调节丙酮酸羧化酶依赖的细胞增殖。Ma 等^[28] 对 42 例胆囊癌患者分析后发现, GCASPC 在胆囊癌中表达量明显降低, 低表达的 GCASPC 与胆囊癌患者的许多临床病理特征相关, 包括肿瘤大小、AJCC 分期、复发及患者生存期, 在其相关细胞实验中, 改变 GCASPC 基因的表达可导致胆囊癌细胞增殖受到影响, 还可以通过泛素化-蛋白酶体途径调节丙酮酸羧化酶蛋白, 进而负性调节丙酮酸羧化酶蛋白决定的细胞增殖来发挥其抑癌作用。同时该作者还发现 miR-17-3p 可与 GCASPC 通过特定的序列结合且相互抑制, 并详细阐明了 miR-17-3p/GCASPC/丙酮酸羧化酶为轴影响胆囊癌细胞周期、增殖的机制。LncRNA MINCR (MYC-induced long noncoding RNA) 是一种在 MYC 阳性淋巴瘤中发现的与 MYC 基因表达关系密切的基因, 研究^[29] 发现 MINCR 可以与目标基因的启动子中的 MYC 结合区域的转录因子结合, 通过这样的方式来反式激活这些基因。MINCR 被发现与许多肿瘤的发病相关。Wang 等^[30] 研究发现 MINCR 在胆囊癌中表达增加, 且高表达的 MINCR 基因与胆囊癌肿瘤的体积、淋巴结转移程度及预后密切相关, 敲除 MINCR 基因后, 细胞增殖受到抑制, 细胞周期于 G1/S 期阻滞, 细胞凋亡增加, 且细胞侵袭作用受到抑制, 作者推测 MINCR 在细胞质基质中吸附于 miR-26a-5p 并抑制其表达, 进而影响 miR-26a-5p 的直接靶基因 EZH2 来调控胆囊癌细胞的多种细胞功能。

4 展望

胆囊癌是一个由多种环境因素及基因改变引起

的疾病, 其诊断困难, 缺乏特异的肿瘤标志物, 恶性程度高, 预后差, 治疗困难等都是我们当前遇到的困扰。然而随着 LncRNA 研究的日益加深, 针对 LncRNA 的特异性治疗以解决当前胆囊癌中化学药物耐药性以及晚期复发性胆囊癌遇到的困难, 已成为潜在的新的治疗手段。某些 LncRNA 也很可能成为胆囊癌分子标志物或治疗靶点, 为胆囊癌的诊断和治疗提供新的方向。未来关于胆囊癌的研究将侧重于早期诊断, 依据患者的基因改变特点进行精细化治疗, 为胆囊癌患者提供更好的临床治疗服务。

参考文献

- Hundal R, Shaffer EA. Gallbladder cancer: epidemiology and outcome[J]. Clin Epidemiol, 2014, 6: 99-109.
- Hueman MT, Vollmer CM Jr, Pawlik TM. Evolving treatment strategies for gallbladder cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(8): 2101-2115.
- 邹声泉, 张林. 全国胆囊癌临床流行病学调查报告[J]. 中国实用外科杂志, 2000, 20(1): 43-46.
- Benson AB 3rd, Abrams TA, Ben-Josef E, et al. NCCN clinical practice guidelines in oncology: hepatobiliary cancers[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2009, 7(4): 350-391.
- Lee SE, Jang JY, Lim CS, et al. Systematic review on the surgical treatment for T1 gallbladder cancer[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(2): 174-180.
- 刘颖斌, 吴文广. 胆囊癌综合治疗进展[J]. 上海医药, 2014, 35(14): 6-8.
- Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. Nat Rev Genet, 2009, 10(3): 155-159.
- Yan B, Wang Z. Long noncoding RNA: its physiological and pathological roles[J]. DNA Cell Biol, 2012, 31 Suppl 1: S34-S41.
- Li CH, Chen Y. Targeting long non-coding RNAs in cancers: progress and prospects[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2013, 45(8): 1895-1910.
- Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas[J]. Mol Cancer, 2011, 10: 38.
- Huarte M, Rinn JL. Large non-coding RNAs: missing links in cancer? [J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(R2): R152-R161.
- Li L, Li W. Epithelial-mesenchymal transition in human cancer: comprehensive reprogramming of metabolism, epigenetics, and differentiation[J]. Pharmacol Ther, 2015, 150: 33-46.
- Neumann O, Kesselmeier M, Geffers R, et al. Methylome analysis and integrative profiling of human HCCs identify novel protumorigenic factors[J]. Hepatology, 2012, 56(5): 1817-1827.
- Zhao J, Liu Y, Zhang W, 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(19): 3112-3123.
- Cai Q, Wang Z, Wang S, et al. Long non-coding RNA LINC00152 promotes gallbladder cancer metastasis and epithelial-mesenchymal transition by regulating HIF-1alpha via miR-138 [J]. Open Biol, 2017, 7(1): 160247.
- Young TL, Matsuda T, Cepko CL. The noncoding RNA taurine up-

- regulated gene 1 is required for differentiation of the murine retina [J]. *Curr Biol*, 2005, 15(6): 501-512.
- 17 Ma F, Wang SH, Cai Q, et al. Long non-coding RNA TUG1 promotes cell proliferation and metastasis by negatively regulating miR-300 in gallbladder carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88: 863-869.
 - 18 Wang SH, Wu XC, Zhang MD, et al. Long noncoding RNA H19 contributes to gallbladder cancer cell proliferation by modulated miR-194-5p targeting AKT2 [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(7): 9721-9730.
 - 19 Wang SH, Ma F, Tang ZH, et al. Long non-coding RNA H19 regulates FOXM1 expression by competitively binding endogenous miR-342-3p in gallbladder cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 160.
 - 20 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.
 - 21 Cai Q, Jin L, Wang S, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes gallbladder cancer progression by epigenetically repressing p21 and E-cadherin expression [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(29): 47957-47968.
 - 22 Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA; a tumor suppressor [J]. *J Mol Endocrinol*, 2012, 48(3): R45-R53.
 - 23 da Rocha ST, Edwards CA, Ito M, et al. Genomic imprinting at the mammalian Dlk1-Dio3 domain [J]. *Trends Genet*, 2008, 24(6): 306-316.
 - 24 Hermeking H. MicroRNAs in the p53 network: micromanagement of tumour suppression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(9): 613-616.
 - 25 Muller PA, Vousden KH. p53 mutations in cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(1): 2-8.
 - 26 Su W, Xie W, Shang Q, et al. The long noncoding RNA MEG3 is downregulated and inversely associated with VEGF levels in osteoarthritis [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:356893.
 - 27 Liu B, Shen ED, Liao MM, et al. Expression and mechanisms of long non-coding RNA genes MEG3 and ANRIL in gallbladder cancer [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(7): 9875-9886.
 - 28 Ma MZ, Zhang Y, Weng MZ, et al. Long Noncoding RNA GCASPC, a Target of miR-17-3p, Negatively Regulates Pyruvate Carboxylase-Dependent Cell Proliferation in Gallbladder Cancer [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(18): 5361-5371.
 - 29 Doose G, Haake A, Bernhart SH, et al. MINCR is a MYC-induced LncRNA able to modulate MYC's transcriptional network in Burkitt lymphoma cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(38): E5261-E5270.
 - 30 Wang SH, Yang Y, Wu XC, et al. Long non-coding RNA MINCR promotes gallbladder cancer progression through stimulating EZH2 expression [J]. *Cancer Lett*, 2016, 380(1): 122-133.

[收稿日期 2017-12-18] [本文编辑 谭毅 刘京虹]

新进展综述

扩张型心肌病常见致病基因及其致病机制的研究进展

黄妹丹, 何凤珍, 张倬华, 韦勤将, 潘兴寿, 程初勇(综述), 刘莉(审校)

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(编号:81560076)

作者单位: 533000 百色, 右江民族医学院(黄妹丹, 何凤珍, 张倬华, 韦勤将); 533000 百色, 右江民族医学院临床医学院心血管内科(潘兴寿, 程初勇, 刘莉)

作者简介: 黄妹丹(1990-), 女, 在读研究生, 研究方向: 心血管疾病基础与临床。E-mail: 1347289742@qq.com

通讯作者: 刘莉(1980-), 女, 医学博士, 讲师, 研究方向: 心血管疾病分子生物学。E-mail: liuli011258@sina.com

[摘要] 扩张型心肌病(DCM)是以“左心室和(或)右心室扩大, 伴心肌收缩功能障碍”为主要临床特征, 以心肌细胞变性、坏死及心肌间质纤维化为主要病理特点的一类原发性心肌疾病。目前 DCM 的病因及发病机制尚未完全明确, 治疗仅以对症为主, 缺乏有效的干预手段。基因突变及遗传因素所致 DCM 是近期的研究热点, 常见的与 DCM 发病相关的基因有 TTN、LMNA、SCN5A、MYBPC3、PLN、TNNT2 等, 它们以常染色体显性方式遗传, 但具体的致病机制仍未明晰。为进一步明确各基因突变的分子生物学机制, 为建立 DCM 早期诊断、精准靶向治疗和评估预后的医疗模式提供可能, 该文对 DCM 常见的致病基因及其致病机制的研究进展进行综述。

[关键词] 扩张型心肌病; 致病基因; 病因学

[中图分类号] R 542.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2018)10-1052-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2018.10.29