

肿瘤内长链非编码 RNA HNF1A-AS1 的调控作用研究进展

姜兴明, 徐 艺, 冷开明, 李景林, 黄立宁, 李正龙, 崔云甫
(哈尔滨医科大学附属第二医院, 黑龙江 哈尔滨, 150086)

摘 要:研究发现近 98% 的人类基因组转录本不编码蛋白质而隶属于非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 家族, 在这其中长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 是重要的成员之一。起初 LncRNA 被视为转录过程中的“噪音”, 随着研究的深入, 发现 LncRNA 参与调控了人体诸多的生理病理过程。此外, 在多种人体恶性肿瘤中证实 LncRNA 呈现异常表达并调控肿瘤的发生发展。LncRNA HNF1A-AS1 在多种恶性肿瘤中呈异常高表达, 并能够促进肿瘤的恶性生物学行为, 全文就 LncRNA HNF1A-AS1 在肿瘤中的调控作用研究作一综述。

关键词: LncRNA; HNF1A-AS1; 肿瘤; 调控作用

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)12-1206-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.12.B013

Research Progress of Regulatory Effect of LncRNA HNF1A-AS1 in Neoplasms

JIANG Xing-ming, XU Yi, LENG Kai-ming, LI Jing-lin, HUANG Li-ning, LI Zheng-long, CUI Yun-fu

(The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

Abstract: According to researches, approximately 98% of the human genome cannot be transcribed into protein and belongs to non-coding RNA (ncRNA), and the long non-coding RNA (LncRNA) is one of the key members of ncRNA family. In the beginning, LncRNAs were considered as the transcriptional noise during the genes expression. With the deepening of research, many studies have demonstrated that LncRNAs are involved in multiple pathophysiological processes of human body. Furthermore, there is increasing evidence that the dysregulation of LncRNAs is closely associated with the occurrence and progression of various carcinomas. LncRNA HNF1A-AS1 has been found to be upregulated in many human cancers and can promote the carcinogenesis. The regulatory effect of LncRNA HNF1A-AS1 in neoplasms will be summarized in this article.

Subject words: LncRNA; HNF1A-AS1; neoplasms; regulatory effect

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 是一类长度大于 200nt、不具有编码蛋白质功能的非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 家族中的重要成员, 在自然界各物种中均发现有 LncRNA 的存在^[1,2]。起初, LncRNA 被视为是转录过程中的“噪音”, 而随着研究的不断深入, 越来越多的研究结果证实 LncRNA 参与到了人类机体的多种生理和病理过程, 在表观遗传、转录及转录后的不同水平调控下

游靶基因的表达^[3-6]。此外, LncRNA 被发现在多种人体恶性肿瘤中呈现显著的异常表达, 并且参与介导了肿瘤的发生发展过程^[7-11]。LncRNA 肝细胞核因子 1 同源框 A 反义 RNA 1 (hepatic nuclear factor 1 homeobox A antisense RNA 1, RNA HNF1A-AS1) 隶属于 LncRNA 家族, 现有研究发现其在多种恶性肿瘤内呈异常高表达并能够促进肿瘤的发生发展。因此, 本文就肿瘤内 LncRNA HNF1A-AS1 的调控作用研究作一综述。

基金项目: 国家自然科学基金 (81602088); 黑龙江省卫生计生委科研课题 (2016049); 黑龙江省博士后资助课题 (LBH-Z16096); 哈尔滨医科大学创新科学研究基金 (2016LCZX09)

通讯作者: 崔云甫, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 博士; 哈尔滨医科大学附属第二医院肝胆外科, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路 246 号 (150086), E-mail: yfcui777@hotmail.com

收稿日期: 2017-09-14; **修回日期:** 2017-10-26

1 LncRNA HNF1A-AS1 概述

LncRNA HNF1A-AS1, 定位于人体 12 号染色体

长臂 24 区 31 带(12q24.31),全长 2455nt。现有研究发现,LncRNA HNF1A-AS1 在食管癌、肺腺癌、胃癌、骨肉瘤等多种人体恶性肿瘤中呈现异常上调表达,并且高表达的 HNF1A-AS1 能够促进细胞增殖、侵袭转移、抗凋亡、自噬等多种肿瘤恶性生物学行为,而沉默 HNF1A-AS1 则能够抑制其促癌作用。此外,肿瘤组织中 LncRNA HNF1A-AS1 的表达水平与患者的病理生理学特征间存在明显的相关性,并且其可以作为肿瘤患者预后的独立判断因素。

2 LncRNA HNF1A-AS1 与肿瘤

2.1 食管癌

Yang 等^[12]研究发现,食管腺癌肿瘤组织中 LncRNA HNF1A-AS1 的表达明显高于对应的癌旁正常组织,外源性沉默 HNF1A-AS1 后能够显著抑制肿瘤细胞的增殖,阻断细胞周期进入 S 期,并同时降低肿瘤细胞的侵袭转移能力。进一步的研究分析显示,下调 HNF1A-AS1 的表达后,染色质和核小体的聚集受到影响,而此过程是细胞周期向前推进的重要步骤。此外,该研究团队还发现,外源性沉默 HNF1A-AS1 后,肿瘤相关性 LncRNA H19 的表达明显下降,并且在肿瘤组织中 H19 与 HNF1A-AS1 两者的表达呈正相关;并且该作者还推测食管癌中 HNF1A-AS1 的功能性下游信号通路可能与 ZFH3 (zinc finger homeobox 3)等基因密切相关。上述研究结果提示,LncRNA HNF1A-AS1 有可能成为检测高侵袭转移性食管腺癌的生物标志物及其肿瘤分子治疗的新靶点。

2.2 肺癌

Wu 等^[13]对 40 例肺腺癌组织的定量检测结果发现 LncRNA HNF1A-AS1 呈明显的异常上调表达,HNF1A-AS1 的表达水平与肿瘤大小、TNM 分期、淋巴结转移密切相关,并且高表达 HNF1A-AS1 组患者的整体生存时间更短。同时,对多种肿瘤细胞内的 HNF1A-AS1 表达进行定量检测发现,相比于细胞质,细胞核内的 HNF1A-AS1 的表达水平更高,这提示 HNF1A-AS1 主要定位于细胞核内并在转录水平发挥其调控作用。利用 siRNA 外源性下调 HNF1A-AS1 表达后,肺癌肿瘤细胞的增殖及侵袭转移能力受到明显抑制,处于 G₁ 期的细胞比例升高而 S 期的

细胞比例下降,但对细胞凋亡无明显影响。此外,该研究团队还构建了低表达 HNF1A-AS1 的肺腺癌稳转细胞,通过建立体内动物模型证实,沉默 HNF1A-AS1 后同样能够抑制肿瘤细胞在体内的生长及肺脏表面转移结节的形成。进一步的生物信息学分析提示, DNMT1 (DNA methyltransferase 1) 与 HNF1A-AS1 密切相关,并且 RIP 检测显示肿瘤细胞内 DNMT1 与 HNF1A-AS1 之间具有较高的富集程度。此外,该研究还指出,HNF1A-AS1 通过调控 cyclin D1 的蛋白表达,对细胞周期信号通路(cell cycle signaling pathway) 进行调控进而影响细胞周期的正常进行,并通过 DNMT1 介导的对 E-cadherin、N-cadherin 和 β -catenin 表达的调控,进而影响肿瘤细胞的上皮间质化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程。

Ma 等^[14]对 117 例非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的肿瘤组织和对应正常组织中 LncRNA HNF1A-AS1 的 qRT-PCR 定量分析结果显示,NSCLC 中 HNF1A-AS1 呈异常上调表达,并且高表达 HNF1A-AS1 的 NSCLC 组患者的淋巴结转移率更高且 TNM 分期更晚。对入组患者的术后随访结果提示,肿瘤组织内呈更高表达 HNF1A-AS1 的 NSCLC 患者的整体生存时间更短。进一步的分析显示,HNF1A-AS1 的表达水平可以作为 NSCLC 患者预后的一个独立判断因素。

2.3 胃癌

Dang 等^[15]对胃癌组织进行 LncRNA 芯片检测,结果显示 LncRNA HNF1A-AS1 呈现下调表达,进一步利用 qRT-PCR 对 161 例胃癌患者的肿瘤组织和对应正常组织的定量检测也得到了相同的结果。此外,相比于正常胃黏膜细胞,多种胃癌肿瘤细胞(AGS、BGC-823、MKN-45)中 HNF1A-AS1 呈相对低表达。进一步的数据分析显示,胃癌中 HNF1A-AS1 的表达水平与肿瘤大小、癌肿侵犯深度、淋巴结转移、血管侵犯及周围浸润密切相关。此外,HNF1A-AS1 在胃癌组织内的表达与血清肿瘤标志物 CEA 和 CA199 以及肿瘤免疫组化标志物 RRM1(ribonucleotide reductase catalytic subunit M1) 的表达显著相关。上述研究结果提示,HNF1A-AS1 在胃癌的发生发展过程中起到了重要的调控作用并有可能成为潜在的治疗干预靶点及疾病评估的生物标志物,

而在这一过程中具体的信号通路调控机制有待于后续的进一步研究探索。

2.4 结肠癌

Zhu 等^[16]对 14 例肿瘤组织及对应正常组织的定量检测证实, LncRNA HNF1A-AS1 在结肠癌中异常高表达, 并且上调表达的 HNF1A-AS1 与肿瘤的淋巴结转移显著相关。进一步对肿瘤细胞中的 HNF1A-AS1 进行检测, 发现 HNF1A-AS1 同样呈上调表达, 并且相比于细胞质, qRT-PCR 定量结果显示细胞核内 HNF1A-AS1 的表达丰度更高, 上述结果提示 HNF1A-AS1 主要定位于结肠癌肿瘤细胞的细胞核内。此外, 外源性沉默 HNF1A-AS1 能够显著抑制肿瘤细胞的增殖与迁移侵袭能力, 并且流式细胞仪检测结果显示处于 G₀/G₁ 期的细胞比例明显上升, 细胞周期被阻滞在 G₀/G₁ 期。

2.5 肝癌

Liu 等^[17]的研究证实在肝癌组织及肿瘤细胞中 LncRNA HNF1A-AS1 呈上调表达, 肿瘤组织内高表达的 HNF1A-AS1 与肿瘤大小、多癌肿病灶、组织分化程度及 TNM 分期密切相关。利用 siRNA 外源性沉默肿瘤细胞内 HNF1A-AS1 表达后, 细胞的增殖受到明显抑制且发生凋亡的细胞比例升高。作者在探究 HNF1A-AS1 对细胞自噬的影响时发现, 饥饿条件下, 外源性沉默 HNF1A-AS1 的表达能够显著降低 LC3BII/LC3BI 的比例并促进 p62 的表达, 利用共聚焦显微镜观察可以看到自噬体和自吞噬泡的形成受到明显抑制。此外, 该研究团队还发现, HNF1A-AS1 可以作为内源性海绵吸附 miR-30b, 而进一步的实验证实肝癌中 miR-30b 可以作为抑癌基因阻断饥饿条件下的肿瘤细胞发生自噬。后续的研究结果进一步提示, HNF1A-AS1 通过吸附 miR-30b 来上调其下游自噬相关基因 Bcl-2 和 ATG5 (autophagy related 5) 的表达, 进而促进肝癌肿瘤细胞发生自噬 (LncRNA HNF1A-AS1/miR-30b/Bcl2+ATG5 调控轴)。

在上述研究的基础上, Wang 等^[18]同样证实在肝癌肿瘤细胞内 LncRNA HNF1A-AS1 呈上调表达, 并且转染 pcDNA3.1 构建的 HNF1A-AS1 过表达载体后可以显著促进肿瘤细胞的增殖, 降低处于 G₁ 期的细胞比例同时提高 S 期的细胞比例, 而沉默 HNF1A-AS1 后检测显示细胞周期相关蛋白 cyclin D1 和 PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 的表

达均明显下降。该研究团队利用 RIP (RNA binding protein immunoprecipitation) 检测发现, 在肝癌肿瘤细胞内 HNF1A-AS1 能够直接与 EZH2 (enhancer of zeste 2)、H3K27me3 及 PRC2 (polycomb repressive complex 2) 结合, 该结果提示 HNF1A-AS1 可以在转录水平借助表观遗传机制调控下游靶基因的表达。进一步的实验证实, HNF1A-AS1 通过与 EZH2 结合促进 EZH2 与下游的 Wnt 信号通路成员 NKD1 (naked cuticle homolog 1) 和 p21 启动子的结合, 进而抑制 NKD1 和 p21 的 mRNA 合成来下调两者的表达; 而反向调控 NKD1 和 p21 的表达能够在一定程度上抑制 HNF1A-AS1 的促增殖作用。

2.6 骨肉瘤

Zhao 等^[19]对 43 例肿瘤组织的 qRT-PCR 定量检测结果显示 LncRNA HNF1A-AS1 在骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 中呈显著上调表达, HNF1A-AS1 的表达水平与肿瘤的临床分期及远处转移密切相关, 高表达 HNF1A-AS1 患者的整体生存情况更差, 并且 HNF1A-AS1 的表达可以作为 OS 患者整体生存时间的独立判断因素。细胞学水平实验发现, 外源性沉默 HNF1A-AS1 后肿瘤细胞的增殖受到明显抑制, 细胞周期被阻滞在 G₀/G₁ 期, 并且发生凋亡细胞比例升高。此外, 下调 HNF1A-AS1 的表达同时可以抑制肿瘤细胞迁移和侵袭的能力。进一步的机制研究显示, 骨肉瘤中 HNF1A-AS1 的促癌作用是通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路而实现的, 沉默 HNF1A-AS1 后 β -catenin 和其下游基因 cyclin D1 及 c-myc 的表达均下降, 并且使用 Wnt/ β -catenin 通路特异性激活剂 (LiCl) 能够抑制下调 HNF1A-AS1 的抗肿瘤作用。上述研究结果提示, 骨肉瘤中 HNF1A-AS1 作为致癌性 LncRNA 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路来促进肿瘤的增殖与侵袭转移。

Cai 等^[20]的研究也同样证实在骨肉瘤组织和肿瘤细胞内 LncRNA HNF1A-AS1 呈异常高表达, 并且其表达水平与肿瘤的远处转移、化疗情况及肿瘤分期呈显著正相关。高表达 HNF1A-AS1 组患者的整体生存时间更短, 并且 HNF1A-AS1 的表达水平可以作为 OS 患者整体生存的独立危险因素。对肿瘤患者术前、术后及正常健康者血清内的 HNF1A-AS1 进行检测发现, 肿瘤患者术前血清内 HNF1A-AS1 的表达水平明显高于正常健康者及患者术后血清内

的表达。术后接受化疗的患者血清内 HNF1A-AS1 的表达水平已接近正常健康者及良性骨肿瘤患者,而术后复发的 OS 患者血清内 HNF1A-AS1 的表达则呈现明显的上升,并且分析显示血清内 HNF1A-AS1 的表达检测可以作为诊断标志物用来从人群中鉴别 OS 患者。进一步的细胞学水平实验发现, HNF1A-AS1 主要定位于细胞核内,外源性沉默 HNF1A-AS1 后能够显著抑制肿瘤细胞的增殖与侵袭转移能力并阻滞细胞周期。此外,该研究团队还指出,骨肉瘤中 HNF1A-AS1 是通过调控 EMT 相关蛋白 N-cadherin、Vimentin、N-cadherin 以及 β -catenin 的表达,进而促进肿瘤细胞的侵袭转移能力。

3 小 结

LncRNA 在恶性肿瘤发生发展过程中的重要调控作用正日益凸显,现有研究已证实 LncRNA 可以在表观遗传、转录及转录后的不同水平通过对下游基因表达的调控,来参与介导对肿瘤恶性生物学行为的影响。目前,肿瘤中 LncRNA HNF1A-AS1 的调控作用研究尚处于初始阶段,更深层面的复杂调控机制以及其作为靶点的分子干预等研究有待于后续的进一步探索。相信,随着研究的不断深入,肿瘤内 LncRNA HNF1A-AS1 的功能将会进一步被揭示,更新对现有 LncRNA 与肿瘤之间关系的认识,并为肿瘤的综合治疗提供新的理论依据与干预靶点。

参考文献:

- [1] Lau E. Non-coding RNA: zooming in on lncRNA functions [J]. *Nat Rev Genet*, 2014, 15(9): 574–575.
- [2] Quinn JJ, Chang HY. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17(1): 47–62.
- [3] Engreitz JM, Pandya-Jones A, McDonel P, et al. The Xist lncRNA exploits three-dimensional genome architecture to spread across the X chromosome [J]. *Science*, 2013, 341(6147): 1237973.
- [4] Batista PJ, Chang HY. Long noncoding RNAs: cellular address codes in development and disease [J]. *Cell*, 2013, 152(6): 1298–1307.
- [5] Wei MR, Wen LF, Li Y. Progress on long non-coding RNA in cancer research [J]. *Journal of Chinese Oncology*, 2017, 23(6): 535–540. [卫美蓉, 闻丽芬, 李珂. 长链非编码 RNA 与肿瘤相关性的研究进展 [J]. *肿瘤学杂志*, 2017, 23(6): 535–540.]
- [6] Wierzbicki AT. The role of long non-coding RNA in transcriptional gene silencing [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15(5): 517–522.
- [7] Wang X, Sun W, Shen WF, et al. Long non-coding RNA DILC regulates liver cancer stem cells via IL-6/STAT3 axis [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(6): 1283–1294.
- [8] Ye J, Zhu AK, Zhang FJ, et al. Expression of long non-coding RNA HOTAIR and its significance in gastrointestinal stromal tumors [J]. *Journal of Chinese Oncology*, 2016, 22(5): 380–383. [叶静, 朱阿考, 张方捷, 等. 长链非编码 RNA HOTAIR 在胃肠间质瘤中的表达特点及其意义 [J]. *肿瘤学杂志*, 2016, 22(5): 380–383.]
- [9] Huang B, Song JH, Cheng Y, et al. Long non-coding antisense RNA KRT7-AS is activated in gastric cancers and supports cancer cell progression by increasing KRT7 expression [J]. *Oncogene*, 2016, 35(37): 4927–4936.
- [10] Du MY, Yin L, He X. Research progress and clinical prospect of LncRNA in tumor invasion and metastasis [J]. *Journal of Chinese Oncology*, 2017, 23(1): 54–59. [杜鸣宇, 尹丽, 何侠. LncRNA 在肿瘤侵袭转移中的研究进展与临床展望 [J]. *肿瘤学杂志*, 2017, 23(1): 54–59.]
- [11] Di S, Zhang F, Sancho A, et al. RBM5-AS1 is critical for self-renewal of colon cancer stem-like cells [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(19): 5615–5627.
- [12] Yang X, Song JH, Cheng Y, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 regulates proliferation and migration in oesophageal adenocarcinoma cells [J]. *Gut*, 2014, 63(6): 881–890.
- [13] Wu Y, Liu H, Shi X, et al. The long non-coding RNA HNF1A-AS1 regulates proliferation and metastasis in lung adenocarcinoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(11): 9160–9172.
- [14] Ma YF, Liang T, Li CR, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 up-regulation in non-small cell lung cancer correlates to poor survival [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(23): 4858–4863.
- [15] Dang Y, Lan F, Ouyang X, et al. Expression and clinical significance of long non-coding RNA HNF1A-AS1 in human gastric cancer [J]. *World J Surg Oncol*, 2015, 13: 302.
- [16] Zhu W, Zhuang P, Song W, et al. Knockdown of lncRNA HNF1A-AS1 inhibits oncogenic phenotypes in colorectal carcinoma [J]. *Mol Med Rep*, 2017.
- [17] Liu Z, Wei X, Zhang A, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 functioned as an oncogene and autophagy promoter in hepatocellular carcinoma through sponging hsa-miR-30b-5p [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(4): 1268–1275.
- [18] Wang C, Mou L, Chai HX, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation by repressing NKD1 and P21 expression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 926–932.
- [19] Zhao H, Hou W, Tao J, et al. Upregulation of lncRNA HNF1A-AS1 promotes cell proliferation and metastasis in osteosarcoma through activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(8): 3503–3512.
- [20] Cai L, Lv J, Zhang Y, et al. The lncRNA HNF1A-AS1 is a negative prognostic factor and promotes tumorigenesis in osteosarcoma [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(11): 2654–2662.