

非编码RNA在喉癌发生中的作用及其临床意义

李群¹ 陆达锴¹ 崔翔¹ 夏天¹ 沈志森^{2*} 郭俊明^{1*}

(¹宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211;

²宁波大学医学院附属李惠利医院耳鼻喉科, 宁波 315040)

摘要 喉癌是头颈部最常见的恶性肿瘤之一, 喉癌患者吞咽、呼吸及发音功能均可受到严重影响, 患者经受“有苦难言”的折磨, 生活质量极差。因此, 揭示喉癌发病的分子机制, 以期提高喉癌早期诊断水平和防治效果一直是该研究领域的热点之一。近年来, 随着基因测序技术、转录组学技术和生物信息学技术等分子生物学技术的应用, 越来越多的与喉癌发生相关的非编码RNA先后被发现。实验证明, 一些短链非编码RNA(如: 上调的miR-16、miR-21、miR-106b和miR-1297, 下调的let-7a、miR-1、miR-24、miR-34a/c、miR-137、miR-203和miR-206)以及长链非编码RNA(如: H19、HOTAIR和MALAT-1)均被发现参与了喉癌的发生、发展过程, 它们发挥着促癌或者抑癌作用, 影响细胞的增殖、浸润、转移和凋亡。这些非编码RNA将有可能为喉癌诊断和治疗分别提供新的标志物和治疗靶点。

关键词 非编码RNA; 喉癌; 基因表达; 发生机制

Roles of Non-coding RNAs in the Occurrence of Laryngeal Carcinoma and Their Clinical Significances

Li Qun¹, Lu Dakai¹, Cui Xiang¹, Xia Tian¹, Shen Zhisen^{2*}, Guo Junming^{1*}

(¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, Ningbo University School of Medicine, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo 315211, China; ²Department of Otorhinolaryngology, the Affiliated Lihuli Hospital,

Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315040, China)

Abstract Laryngeal carcinoma is one of the most common malignancies in human head-and-neck region. Patients with laryngeal carcinoma usually have serious troubles in swallowing, respiration and pronunciation. They suffer from pain of “hard to express”. As a result, patients’ life quality is deteriorating sharply. To improve early diagnostic, treatment and prevention of laryngeal carcinoma, characterizing its molecular mechanisms has been of major interest. With recent technical developments in next-generation sequencing, transcriptomics, bioinformatics etc., several non-coding RNAs (ncRNAs) associated with laryngeal carcinoma have been identified. Short ncRNAs, miR-16, miR-21, miR-106b and miR-1297 are up-regulated in laryngeal carcinoma; While let-7a, miR-1, miR-24, miR-34a/c, miR-137, miR-203 and miR-206 down-regulated. Long ncRNAs, H19, HOTAIR and MALAT-1 also express aberrantly in laryngeal carcinoma. Acting as oncogenes or tumor suppressors, those ncRNAs affect cells’

收稿日期: 2013-08-15 接受日期: 2013-09-22

浙江省医药卫生科技计划项目(批准号: 2012ZDA042)、宁波市自然科学基金(批准号: 2012A610208、2012A601217)、宁波市科技创新团队项目(批准号: 2011B82014、2012B82019)和宁波市重大择优委托项目(批准号: 2012C5015)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-87018634, E-mail: szs7216@163.com; Tel: 0574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

Received: August 15, 2013 Accepted: September 22, 2013

This work was supported by the Medical and Health Research Project of Zhejiang Province (Grant No.2012ZDA042), the Natural Science Foundation of Ningbo (Grant No.2012A610208, 2012A610217), the Scientific Innovation Team Project of Ningbo (Grant No.2011B82014, 2012B82019) and Ningbo Social Developmental Key Research Project (Grant No.2012C5015)

*Corresponding authors. Tel: +86-574-87018634, E-mail: szs7216@163.com; Tel: +86-574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2013-11-25 11:08 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131125.1108.007.html>

proliferation, invasion, metastasis and apoptosis. Therefore, ncRNAs play important roles in the occurrence, development and progress of laryngeal carcinoma. Potentially, related ncRNAs may be used as novel biomarkers in diagnosis or drug targets for anti-cancer therapeutics.

Key words non-coding RNA; laryngeal carcinoma; gene expression; mechanisms

随着人类基因组计划的完成以及基因芯片技术和基因测序技术的应用,人们发现蛋白质编码基因在人类基因组中所占比例不到2%,而剩余的至少90%的人类基因组序列会转录成不具备蛋白质编码功能的非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)^[1]。ncRNA过去被认为是转录过程中的剪接产物、基因碎片,更曾被称为“转录噪音”^[2-3]。但是,随着细胞和分子生物学的逐步深入,越来越多的证据表明,ncRNA具有多样的生物学功能。

1 ncRNA简介

根据长度不同,可将ncRNA分为三大类:短链非编码RNA(short ncRNA)、中链非编码RNA(mid-size ncRNA)和长链非编码RNA(long ncRNA)^[4]。

1.1 短链ncRNA

短链ncRNA长度约17~31 nt,主要包括:微小RNA(microRNA, miRNA)、Piwi相互作用RNA(Piwi-interaction RNA, piRNA)、小干扰RNA(small interference RNA, siRNA)等。近十年来,有关ncRNA的研究主要集中在这些短链ncRNA,它们已先后被证明与人类疾病相关^[4-6]。短链ncRNA主要通过降解或沉默mRNA、表观遗传修饰、转座子抑制等机制调控基因的表达,从而影响细胞的生长、增殖、分化和代谢等活动^[4,7]。

1.2 中链ncRNA

中链ncRNA的长度约20~200 nt,包括:(1)核仁小RNA(small nucleolar RNA, snoRNA),它们参与rRNA

的转录后化学修饰作用^[4,8];(2)转运RNA(transfer RNA, tRNA),其功能为在蛋白质合成过程中转运氨基酸;(3)胞质小分子RNA(small cytoplasmic RNA, scRNA),它们参与mRNA的转运和编辑活动^[9]。除这些中链ncRNA外,还有一些仍处在研究的初期阶段,如:启动子相关小RNA(promoter-associated short RNA, PASR)、转录起始位点相关RNA(transcription start site-associated RNA, TSSa-RNA)和启动子上游转录子(promoter upstream transcript, PROMPT)等。它们的功能尚不十分明确,有待进一步研究^[4]。

1.3 长链ncRNA

lncRNA是长度超过200 nt的ncRNA,大部分由RNA聚合酶II转录并剪接形成^[10]。lncRNA占真核生物ncRNA的绝大部分,存在于细胞核或者胞浆内,并在多种层面上调控基因的转录过程^[11]。与miRNA相比,lncRNA种类多、数量大、空间结构较不稳定、作用范围更广泛。研究证明,lncRNA参与了染色质修饰、端粒调控、基因印记、细胞结构形成和mRNA降解等众多生物学过程^[4,12]。上述三类主要ncRNA及其功能见表1。

2 ncRNA与肿瘤

ncRNA广泛存在于细菌、真菌、多细胞动物中,参与生物体的重要生命活动。国内外的大量研究显示,许多ncRNA与人类肿瘤密切相关,它们既可以充当癌基因又可充当抑癌基因,参与肿瘤的发生、发展过程。

表1 ncRNA的分类与主要功能

Table 1 Classifications of ncRNAs and their main roles

类别 Classification	长度(nt) Size(nt)	举例 Examples	功能 Roles	参考文献 References
Short ncRNA	<31	miRNA, piRNA, tiRNA, siRNA	Targeting of mRNA, regulate transcription, DNA methylation, transposon repression	[4-7]
Mid-size ncRNA	20~200	snoRNA, tRNA, scRNA, PASR, TSSa-RNA, PROMPT	Regulate transcription, rRNA modifications, activate targeted genes	[4,8-9]
Long ncRNA	>200	sense lncRNA, antisense lncRNA, bidirectional lncRNA, intronic lncRNA, intergenic lncRNA	Regulate miRNA or mRNA, X-chromosome inactivation, imprinting, chromatin modification, degradation of RNA	[4,11-12,17]

2.1 短、中链ncRNA与肿瘤

miRNA是一类研究得比较深入的ncRNA, 不仅在生物发育和分化过程中起着重要作用, 而且在肿瘤的发生过程中也起着较为关键的作用^[4]。有些miRNA通过与mRNA 3'端非翻译区(3'-untranslated region, 3'UTR)的序列完全互补配对降解mRNA; 另一些miRNA通过与相关mRNA不完全互补配对, 沉默该基因的翻译过程从而引起肿瘤的发生^[10]。

miRNA与肿瘤的有关研究最初是在白血病研究中发现的。Calin等^[13]首先发现, miR-15和miR-16在慢性淋巴细胞白血病中表达下调或缺失。此后, 有关miRNA与肿瘤关系的研究逐渐增多。

近年有关另一类短链ncRNA——piRNA与肿瘤关系的研究认为, piRNA在肺癌、结肠癌、胃癌等肿瘤中异常表达, 并且能够介导印记基因的甲基化作用等过程, 参与肿瘤细胞的生长调控^[6,14]。

关于中链ncRNA与肿瘤关系的研究主要集中在snoRNA。snoRNA能够调控基因表达, 在淋巴瘤、非小细胞肺癌、乳腺癌和前列腺癌等肿瘤组织中均发现了相关snoRNA的异常表达^[4,8,15]。

2.2 长链ncRNA与肿瘤

短、中链ncRNA与肿瘤的关系仅仅是ncRNA与肿瘤关系中的冰山一角。lncRNA至少占ncRNA总数的80%, 它们参与了表观遗传学调控、转录水平及转录后水平调控等重要生命活动^[3]。目前, 对lncRNA的研究处于起步阶段, 但lncRNA已经成为细胞与分子生物学研究领域中的新热点。现有研究显示, 在白血病、肺癌、肝癌、前列腺癌和胃癌等肿瘤中都发现大量lncRNA的表达和功能异常^[16-17]。

3 ncRNA与喉癌

喉癌是最具侵袭性的头颈部肿瘤之一, 占每年全球新发恶性肿瘤的约2.4%^[18]。研究证明, 喉癌的发病原因包括吸烟、乳头状瘤病毒感染以及不良饮食习惯等^[19-21]。喉癌约占头颈部肿瘤的1/4, 其中声门型喉癌占2/3, 声门上型喉癌比例为1/3^[22]。早期喉癌难以诊断, 但早期喉癌可通过手术或者放疗达到治愈; 而晚期喉癌患者治疗后吞咽、呼吸及发音功能均受到严重影响, 患者经受“有苦难言”的折磨, 生活质量和生存率都欠佳, 其5年生存率约为64.2%^[23]。

喉癌的病因学说众多, 但其分子机制仍未明确, 况且针对喉癌的靶向药物及基因治疗方法十分有

限, 因此, 在分子水平上开展喉癌发生、发展机制的研究将有助于提高喉癌的诊治水平。

3.1 高通量筛选喉癌相关ncRNA

随着对喉癌发生、发展的分子机制研究的深入, 一些ncRNA被证明与喉癌细胞的增殖、转移和凋亡有关。基因叠瓦芯片技术(tiling array)、基因表达系列分析(serial analysis of gene expression, SAGE)技术和生物信息学方法等高通量筛选差异表达基因的方法为研究者寻找喉癌等肿瘤相关ncRNA提供了便利^[24-25]。

为寻找喉癌相关ncRNA, 国内外先后有学者对喉癌组织进行了ncRNA表达谱分析。如: Mirisola等^[22]通过对20对预后不同喉癌患者的组织标本进行基因表达微阵列分析, 结果发现, 213种基因表达具有差异, 并发现母系印记基因转录本H19(the reciprocally imprinted partner of Igf2)在高复发风险喉癌组中呈现低表达; 相反, 有2种snoRNA(SNORA16A和SNOR-D14C; 分别属于H/ACA box和C/D box^[8])在高复发风险喉癌组中高表达。Nurul-Syakima等^[26]通过对头颈部肿瘤进行miRNA表达谱分析, 发现了7种上调、3种下调的miRNA。国内有研究者对喉癌及癌旁正常组织进行芯片分析, 筛选出47种在喉癌中差异表达的miRNA, 其中有10种miRNA下调5倍以上, 而另3种miRNA上调3倍以上^[27]。Liu等^[28]通过用包含210种人类miRNA探针的芯片对3对喉癌标本进行分析, 结果发现, let-7a-1、miR-16-1、miR-21、miR-98、miR-203和miR-205在喉癌组织中高表达, 而miR-1-2、miR-26a-1、miR-34c、miR-100、miR-122a、miR-143和miR-145在喉癌中低表达。Cao等^[29]将6对喉癌组织标本进行miRNA表达谱分析, 分别发现26种和3种明显表达上调和下调的miRNA; 他们进一步采用实时定量逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)技术进行验证, 证实了miR-21、miR-93、miR-205和miR-708在喉癌组织中呈高表达, 而miR-125b和miR-145呈低表达。

经过多年的努力, 现在人们已经发现了一些在喉癌中异常表达的ncRNA(表2)。在miRNA当中, 以下调为主; 而lncRNA当中以上调为主。

3.2 短链ncRNA与喉癌

目前, 关于短链ncRNA与喉癌关系的研究主要集中在miRNA与喉癌关系方面。人们发现, miRNA通过作用于其相应靶基因影响喉癌细胞的增殖、浸润、转移和凋亡(图1)。从图中可以看出, 在这些靶

表2 非编码RNA在喉癌中的表达情况
Table 2 Non-coding RNA expression signature in laryngeal carcinoma

非编码RNA NcRNA	染色体位点 Location	喉癌中表达情况 Expression change	参考文献 References
Short ncRNA			
miR-21	17q23.1	↑	[28-29,31,36]
miR-205	1q32.2	↑	[29]
miR-93	7q22.1	↑	[29]
miR-708	11q14.1	↑	[29]
miR-1297	13	↑	[20]
miR-106b	7q22.1	↑	[34]
miR-16-1/2	13q14.2/2q25.33	↑	[35]
miR-125b	1q24.1	↓	[29]
miR-145	5q32	↓	[29]
miR-375	2q35	↓	[36]
let-7a-1	9q22.32	↓	[28,37]
miR-34c	11q23.1	↓	[28,38]
miR-24-1/2	9q22/19p13	↓	[39]
miR-206	6p12.2	↓	[40]
miR-137	1p21.3	↓	[41]
miR-1-2	18q11.2	↓	[28,42]
miR-34a	1p36.22	↓	[43]
miR-203	14q32.33	↓	[44]
Mid-size ncRNA			
SNORA16A	1p35.3	↑	[22]
SNORD14C	11q23.3-q25	↑	[22]
LncRNA			
H19	11p15.5	↓	[22]
HOTAIR	12q13.13	↑	[45]
MALAT-1	11q13.1	↑	[46]

基因当中，有不少是属于癌基因或抑癌基因。

3.2.1 喉癌中具有促癌活性的miRNA miR-21是肿瘤细胞中最常见异常表达的miRNA之一，它在肺癌、前列腺癌、乳腺癌、胃癌和结直肠癌等中均有异常表达^[30]。miR-21同样被证明是喉癌的典型致癌性miRNA^[28]。Liu等^[31]通过实时定量RT-PCR技术和免疫组化技术研究发现，miR-21可通过调控抑癌基因PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)的表达而促进喉癌的发生(图1)。他们发现，miR-21可使喉癌Hep-2细胞的增殖活性增强，凋亡能力下降；结合临床组织标本分析，证明其表达水平与肿瘤患者的分期呈正相关性。值得注意的是，Li等^[20]在喉癌中发现，miR-1297也可通过抑制PTEN的表达使细胞增殖和转移能力得到增强(图1)。这两项研究进一步说明，不同miRNA可以对同一种靶基因的表达进行调控，这是体现miRNA生物

学功能的一个重要特征。

miR-21还可以通过下调B细胞异位基因2(B-cell translocation gene 2, *BTG2*)的表达(图1)，使细胞增殖能力提高^[28]。miR-21的另一个作用靶点是*RAS*癌基因(图1)。有研究发现，miR-21通过调节*RAS*的表达水平，促进喉癌细胞增殖和侵袭性^[32]。国内学者研究发现，抑制miR-21的表达可以显著抑制喉癌细胞增殖^[33]。这些研究表明，同一种miRNA可通过调控多种靶基因的表达参与喉癌的发生过程，这是体现miRNA生物学功能的另一个重要特征。

在喉癌中发现的具有促进癌细胞增殖作用的miRNA还有miR-106b。Cai等^[34]在分析不同分期的喉癌组织标本中miR-106b的表达情况时发现，在喉癌中晚期患者的癌组织中，这一miRNA的水平明显高于早期喉癌患者癌组织中的水平。分子机制研究进一步发现，miR-106b具有抑制著名的抑癌基

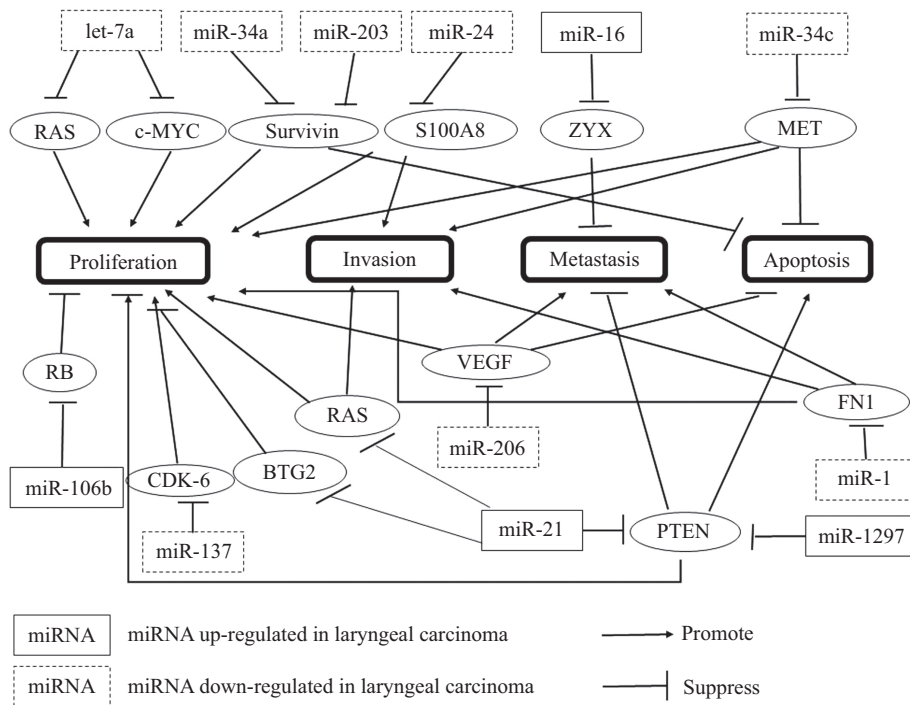


图1 miRNA在喉癌发生中的作用机制

Fig.1 The mechanisms of miRNAs in the occurrence of laryngeal carcinoma

因——视网膜母细胞瘤基因(retinoblastoma tumor suppressor, *RB*)的作用(图1)^[34]。

肿瘤转移是引起肿瘤患者死亡的主要原因。研究发现, miRNA也在喉癌转移过程中起着较为重要的作用。例如: miR-16可以直接抑制斑联蛋白(zyxin, *ZYX*)的表达(图1), 使细胞黏附能力下降, 增强喉癌细胞的转移能力^[35]。斑联蛋白是细胞基质和细胞间接头中的蛋白质组分, 参与黏着斑的形成, 它的表达下降将促进肿瘤转移。

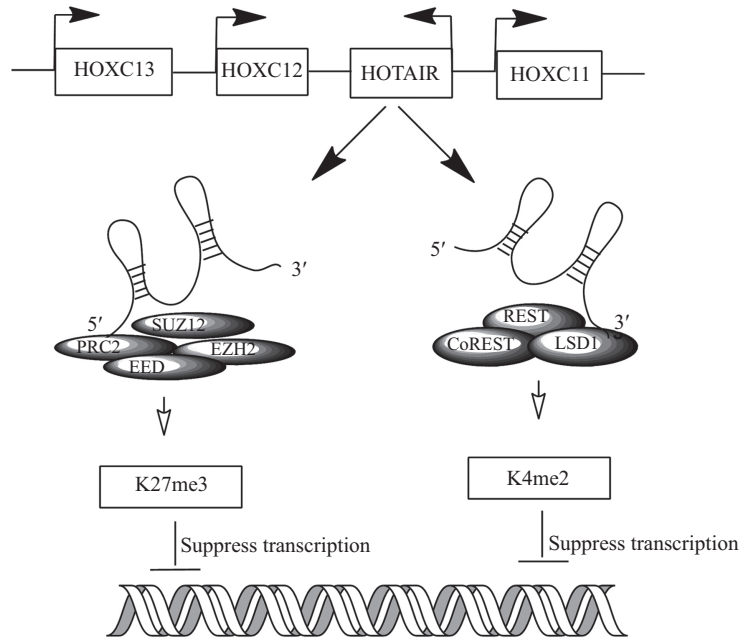
3.2.2 喉癌中具有抑癌活性的miRNA 在喉癌的研究中, 人们除了发现了一些上述的具有促癌作用的miRNA, 还发现了一些具有抑癌作用的miRNA。比如: let-7a是常见的具有抑癌活性的miRNA, 它在喉癌细胞中往往低表达, 而它的靶基因是*RAS*和*c-MYC*癌基因(图1), 因此, 喉癌组织和细胞中let-7a的表达下降有利于癌细胞增殖^[37]。

细胞实验研究发现, miR-34c能够通过作用于肝细胞生长因子受体MET抑制喉癌Hep-2细胞的侵袭和生长能力, 并且能够诱导细胞凋亡(图1); 而临床研究发现, miR-34c的表达水平在喉癌组织中显著下调^[38]。Guo等^[39]不仅发现miR-24在喉癌组织中呈低表达, 而且证明它可以在转录水平抑制炎症蛋白基因*S100A8*的表达, 进而抑制Hep-2细胞的侵袭和增殖能力(图

1)。Wang等^[42]的分子机制研究发现, miR-1可以通过下调纤连蛋白1(fibronectin, FN1)的表达来抑制Hep-2细胞的生长、转移和侵袭能力(图1)。

血管形成有利于肿瘤细胞的生存, 其过程涉及到包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在内的多种因子。miR-206的功能之一是抑制血管内皮生长因子的表达(图1)。有研究发现, 将miR-206转染到喉癌细胞将抑制细胞增殖和转移能力, 并诱导细胞凋亡^[40]。

细胞周期异常是肿瘤细胞的一个重要特征。研究发现, 有许多喉癌相关miRNA可以影响细胞周期进程。如: miR-137可通过影响细胞周期依赖性激酶6(cyclin-dependent kinase 6, Cdk6)的表达而引起细胞生长停滞(图1)^[47]。值得一提的是, 本课题组发现, miR-34a可以通过下调生存素(survivin)的表达使Hep-2细胞阻滞在G₀/G₁期, 从而降低细胞增殖能力(图1); 结合喉癌患者的生存情况进行分析, 我们还证明miR-34a的表达水平与喉癌患者的预后呈正相关^[43]。此外, Bian等^[44]通过实验发现, miR-203也可以直接影响生存素的表达而使喉癌细胞阻滞在G₀/G₁期(图1)。生存素是一种重要的凋亡抑制蛋白, 具有抑制细胞凋亡和调节细胞分裂的双重功能, 在喉癌等绝大多数肿瘤组织和肿瘤细胞中呈现异常高表



HOXC: 同源盒基因C; HOTAIR: *HOX*基因的反义基因间RNA; SUZ12: 表观沉默蛋白; EZH2: *zeste*基因增强子同源物2; EED: 胚胎外胚层发育相关蛋白; PRC2: 多梳抑制复合物2; REST: 阻抑元件1沉默转录因子; CoREST: 阻抑元件1沉默转录因子辅阻抑蛋白; LSD1: 赖氨酸特异的脱甲基化酶1。

HOXC, Homeobox C; HOTAIR: *HOX* transcript antisense RNA; SUZ12: suppressor of *zeste* 12 polycomb repressive complex 2 subunit; EZH2: enhancer of *zeste* homolog 2; EED: embryonic ectoderm development; PRC2: polycomb repressive complex 2; REST: repressor element-1 silencing transcription factor; CoREST: corepressor for repressor element-1 silencing transcription factor; LSD1: lysine-specific demethylase 1.

图2 HOTAIR通过招募PRC2或LSD1复合物产生甲基化作用或者去甲基化作用抑制基因转录(根据参考文献[4]作适当修改)

Fig.2 PRC2 or LSD1 complexes are recruited by HOTAIR, and then lead to silencing of genes through methylation or demethylation (modified from reference [4])

达^[43]。

揭示喉癌中miRNA低表达的原因对于提高该类肿瘤发病机制的认识和有效利用miRNA服务于临床诊治实践均具有重要意义。Langevin等^[41]研究发现, miR-137基因启动子区甲基化是导致喉癌细胞中miR-137表达下降的主要原因; 临床患者的生存曲线分析进一步说明, 该miRNA基因启动子区的甲基化程度与喉癌患者的预后呈负相关。

3.3 长链ncRNA与喉癌

最近的研究表明, lncRNA在肿瘤发生、发展过程中扮演重要角色。先后已有一些研究发现了lncRNA与头颈部肿瘤相关。Gibb等^[48]采用SAGE技术研究了口腔黏膜组织中lncRNA的表达谱, 发现核副斑点包装转录物1(nuclear paraspeckle assembly transcript 1, NEAT1)是正常口腔黏膜中表达最高的lncRNA; 通过对比研究进一步发现, 有多达164种lncRNA在异型增生黏膜中呈现2倍以上表达异常。在未分化鼻咽癌细胞中H19呈高表达, 并且与肿瘤的转移相关^[49]。最近, lncRNA与喉癌发生、发展和预后关系的研究也开始引起人们的关注。

*HOX*基因的反义基因间RNA(*HOX* transcript antisense RNA, HOTAIR)是位于人类2号染色体长臂中*HOX*基因座转录的lncRNA, 属于远距离反式转录调控的lncRNA^[50]。HOTAIR在原发性乳腺癌组织中表达明显增高, 被证明与乳腺癌转移及预后有关^[51]。HOTAIR的5'端可以招募多梳抑制复合物2(polycomb repressive complex 2, PRC2)从而改变H3组蛋白27位赖氨酸的甲基化(H3K27me), 进而影响一系列靶蛋白的表达; 而它的3'端可以与组蛋白脱甲基化酶——赖氨酸特异的脱甲基化酶1(lysine-specific demethylase 1, LSD1)结合, 进而调控相关基因转录过程^[52](图2)。有研究发现, HOTAIR在肝细胞肝癌、结肠癌中都呈现显著高表达, 并且与肿瘤患者的预后相关^[53-54]。Li等^[45]针对喉癌组织中HOTAIR的表达水平开展了一系列的研究, 结果发现, 喉癌组织中HOTAIR的表达水平与喉癌患者的分期、肿瘤分化程度和颈部淋巴结转移等密切相关; 经过Kaplan-Meier分析发现, HOTAIR高表达的患者生存期明显降低, 说明这一种lncRNA具有成为喉癌患者预后标志物的潜能。更值得一提的是, 体外实验发现,

HOTAIR在喉癌细胞Hep-2中具有抗凋亡作用; 进一步采用甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)技术证明HOTAIR可以调控抑癌基因*PTEN*启动子区的甲基化水平^[45]。随后, 研究者将HOTAIR敲除的Hep-2细胞移植到裸鼠制成移植瘤模型, 证明了HOTAIR能够在体内影响喉癌的发生和发展^[45]。

肺腺癌转移相关转录本1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript-1, MALAT-1)由*NEAT1*基因下游约58 Kb区域转录生成。最早人们发现它与非小细胞肺癌患者的分期和组织特异性相关^[55]。在黑猩猩、猕猴和小鼠组织中同样存在有MALAT-1。MALAT-1在人体多种器官(如前列腺、脾、肾脏等)组织中表达, 但在子宫、皮肤、胃、骨髓组织中却表达缺失^[56]。近年来一些实验证明, MALAT-1在人类许多肿瘤(如: 乳腺癌、结肠癌、肝癌和前列腺癌等)中都有异常表达^[57]。最近, MALAT-1与喉癌相关的研究也有报道。Feng等^[46]通过实时定量RT-PCR的方法发现, MALAT-1在喉鳞状细胞癌细胞中表达异常增高, 而抑制MALAT-1的表达能够降低喉癌细胞的增殖、转移能力并导致凋亡的发生。在裸鼠移植瘤模型中, 他们还发现, 如果抑制MALAT-1的表达能够明显的限制喉癌的生长速度^[46]。因此, MALAT-1可能在喉癌发生中起着重要作用, 有可能成为喉癌潜在的治疗靶点。

4 问题与展望

人类基因组的研究使ncRNA逐渐引起大家的关注, 以ncRNA为基础的分子生物学研究掀起了揭示疾病致病机制的崭新一面。

近年来, 人们在基因层面对肿瘤的研究日渐深入, 基因表达异常引起肿瘤发生、转移和复发的研究逐渐吸引学者的目光。国内外关于ncRNA的表达谱研究主要集中于miRNA方面, 与喉癌有关的miRNA表达谱也先后有研究报道, 这些研究也证明miRNA对喉癌的发生、发展具有调控作用^[29]。

目前对lncRNA的研究尚不深入, lncRNA的提取和未来临床应用所面临的困难还很多, 比如: 标本在现有存储条件下难以避免RNA的降解、lncRNA数据库相对不完善等, 但是lncRNA数量繁多, 调控方式多样, 对其深入研究有助于对喉癌细胞分子机制的解析^[58]。

总之, 喉癌相关性ncRNA有作为喉癌诊断、判

断分期的潜在可能性, 并为喉癌这一严重危害人类健康和生命的常见疾病的治疗研究开辟了新思路。

参考文献 (References)

- Costa FF. Non-coding RNAs: Meet thy masters. *Bioessays* 2010; 32(7): 599-608.
- Roberts TC, Wood MJ. Therapeutic targeting of non-coding RNAs. *Essays Biochem* 2013; 54(1): 127-45.
- Leung YY, Ryvkin P, Ungar LH, Gregory BD, Wang LS. CoRAL: Predicting non-coding RNAs from small RNA-sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2013; 41(14): e137.
- Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet* 2011; 12(12): 861-74.
- Lin Y, Zeng Y, Zhang F, Xue L, Huang Z, Li W, *et al.* Characterization of microRNA expression profiles and the discovery of novel microRNAs involved in cancer during human embryonic development. *PLoS One* 2013; 8(8): e69230.
- Cheng J, Deng H, Xiao B, Zhou H, Zhou F, Shen Z, *et al.* piR-823, a novel non-coding small RNA, demonstrates *in vitro* and *in vivo* tumor suppressive activity in human gastric cancer cells. *Cancer Lett* 2012; 315(1): 12-7.
- Yu JJ, Xia SJ. Novel role of microRNAs in prostate cancer. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126(15): 2960-4.
- 肖丙秀, 夏天, 郭俊明. 核仁小RNA在肿瘤发生中的作用. *中国生物化学与分子生物学报*(Xiao Bingxiu, Xia Tian, Guo Junming. The roles of small nucleolar RNA in tumorigenesis. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular biology*) 2012; 28(12): 1087-92.
- Glinsky GV. Phenotype-defining functions of multiple non-coding RNA pathways. *Cell Cycle* 2008; 7(11): 1630-9.
- Sana J, Faltejskova P, Svoboda M, Slaby O. Novel classes of non-coding RNAs and cancer. *J Transl Med* 2012; 10: 103.
- Li CH, Chen Y. Targeting long non-coding RNAs in cancers: Progress and prospects. *Int J Biochem Cell Biol* 2013; 45(8): 1895-910.
- Kornienko AE, Guenzl PM, Barlow DP, Pauler FM. Gene regulation by the act of long non-coding RNA transcription. *BMC Biol* 2013; 11: 59.
- Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, *et al.* Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR-15 and miR-16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(24): 15524-9.
- Cheng J, Guo JM, Xiao BX, Miao Y, Jiang Z, Zhou H, *et al.* piRNA, the new non-coding RNA, is aberrantly expressed in human cancer cells. *Clin Chim Acta* 2011; 412(17-18): 1621-5.
- Su H, Xu T, Ganapathy S, Shadfan M, Long M, Huang TH, *et al.* Elevated snoRNA biogenesis is essential in breast cancer. *Oncogene* 2013; doi: 10.1038/onc.2013.89.
- Maxmen A. RNA: The genome's rising stars. *Nature* 2013; 496(7443): 127-9.
- 宋皓军, 俞秀冲, 夏天, 郭俊明, 肖丙秀. 长链非编码RNA与肿瘤的关系及其临床价值. *中国细胞生物学报*(Song Haojun, Yu Xiuchong, Xia Tian, Guo Junming, Xiao Bingxiu. Associations between long non-coding RNAs and tumors, and their clinical values. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2012; 34(7): 704-12.
- Christensen A, Kristensen E, Therkildsen MH, Specht L, Reibel

- J, Homøe P. Ten-year retrospective study of head and neck carcinoma in situ: incidence, treatment, and clinical outcome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013; 116(2): 174-8.
- 19 Edefonti V, Bravi F, Garavello W, La Vecchia C, Parpinel M, Franceschi S, *et al.* Nutrient-based dietary patterns and laryngeal cancer: evidence from an exploratory factor analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(1): 18-27.
- 20 Li X, Wang HL, Peng X, Zhou HF, Wang X. miR-1297 mediates PTEN expression and contributes to cell progression in LSCC. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 427(2): 254-60.
- 21 Li X, Gao L, Li H, Gao J, Yang Y, Zhou F, *et al.* Human papillomavirus infection and laryngeal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 2013; 207(3): 479-88.
- 22 Mirisola V, Mora R, Esposito AI, Guastini L, Tabacchiera F, Paleari L, *et al.* A prognostic multigene classifier for squamous cell carcinomas of the larynx. *Cancer Lett* 2011; 307(1): 37-46.
- 23 Rudolph E, Dyckhoff G, Becher H, Dietz A, Ramroth H. Effects of tumour stage, comorbidity and therapy on survival of laryngeal cancer patients: A systematic review and a meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011; 268(2): 165-79.
- 24 Brunner AL, Beck AH, Edris B, Sweeney RT, Zhu SX, Li R, *et al.* Transcriptional profiling of lncRNAs and novel transcribed regions across a diverse panel of archived human cancers. *Genome Biol* 2012; 13(8): R75.
- 25 Nohata N, Hanazawa T, Kinoshita T, Okamoto Y, Seki N. MicroRNAs function as tumor suppressors or oncogenes: Aberrant expression of microRNAs in head and neck squamous cell carcinoma. *Auris Nasus Larynx* 2013; 40(2): 143-9.
- 26 Nurul-Syakima AM, Yoke-Kqueen C, Sabariah AR, Shiran MS, Singh A, Learn-Han L. Differential microRNA expression and identification of putative miRNA targets and pathways in head and neck cancers. *Int J Mol Med* 2011; 8(3): 327-36.
- 27 王 苹, 付 涛, 王绪锐, 祝 威. 应用微阵列芯片分析喉鳞状细胞癌miRNA与正常黏膜表达差异的初步研究. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*(Wang Ping, Fu Tao, Wang Xurui, Zhu Wei. Primary study of miRNA expression patterns in laryngeal carcinoma by microarray. *Clinical Journal of Otolaryngology Head and Neck Surgery*) 2010; 4(12): 535-8.
- 28 Liu M, Wu H, Liu T, Li Y, Wang F, Wan H, *et al.* Regulation of the cell cycle gene, BTG2, by miR-21 in human laryngeal carcinoma. *Cell Res* 2009; 19(7): 828-37.
- 29 Cao P, Zhou L, Zhang J, Zheng F, Wang H, Ma D, *et al.* Comprehensive expression profiling of microRNAs in laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2013; 35(5): 720-8.
- 30 Kumarswamy R, Volkman I, Thum T. Regulation and function of miRNA-21 in health and disease. *RNA Biol* 2011; 8(5): 706-13.
- 31 Liu J, Lei DP, Jin T, Zhao XN, Li G, Pan XL. Altered expression of miR-21 and PTEN in human laryngeal and hypopharyngeal squamous cell carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12(10): 2653-7.
- 32 Ren J, Zhu D, Liu M, Sun Y, Tian L. Downregulation of miR-21 modulates Ras expression to promote apoptosis and suppress invasion of Laryngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer* 2010; 46(18): 3409-16.
- 33 任敬远, 赵晓东, 朱 丹, 陈伟刚, 郑周红, 刘 鸣, 等. 反义miRNA-21慢病毒表达载体的构建及对喉癌细胞的增殖抑制作用. *现代肿瘤医学*(Ren Jingyuan, Zhao Xiaodong, Zhu Dan, Chen Weigang, Zheng Zhouhong, Liu Ming, *et al.* Construction and identification of lentiviral vector of anti-miR-21 oligonucleotides and regulation on proliferation of laryngeal squamous cell carcinoma. *Journal of Modern Oncology*) 2012; 20(10): 2012-6.
- 34 Cai K, Wang Y, Bao X. MiR-106b promotes cell proliferation via targeting RB in laryngeal carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2011, 30(1): 73.
- 35 Wu H, Liu T, Wang R, Tian S, Liu M, Li X, *et al.* MicroRNA-16 targets zyxin and promotes cell motility in human laryngeal carcinoma cell line HEP-2. *IUBMB Life* 2011; 63(2): 101-8.
- 36 胡 安, 金晓杰. mir-21与 mir-375在喉鳞状细胞癌中的表达. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*(Hu An, Jin Xiaojie. Expression of mir-21 and mir-375 in laryngeal squamous cell carcinoma. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*) 2012; 26(18): 788-92.
- 37 Long XB, Sun GB, Hu S, Liang GT, Wang N, Zhang XH, *et al.* Let-7a microRNA functions as a potential tumor suppressor in human laryngeal cancer. *Oncol Rep* 2009; 22(5): 1189-95.
- 38 Cai KM, Bao XL, Kong XH, Jinag W, Mao MR, Chu JS, *et al.* Hsa-miR-34c suppresses growth and invasion of human laryngeal carcinoma cells via targeting c-Met. *Int J Mol Med* 2010; 25(4): 565-71.
- 39 Guo Y, Fu W, Chen H, Shang C, Zhong M. miR-24 functions as a tumor suppressor in Hep2 laryngeal carcinoma cells partly through down-regulation of the S100A8 protein. *Oncol Rep* 2012; 27(4): 1097-103.
- 40 Zhang T, Liu M, Wang C, Lin C, Sun Y, Jin D. Down-regulation of MiR-206 promotes proliferation and invasion of laryngeal cancer by regulating VEGF expression. *Anticancer Res* 2011; 31(11): 3859-63.
- 41 Langevin SM, Stone RA, Bunker CH, Lyons-Weiler MA, LaFramboise WA, Kelly L, *et al.* MicroRNA-137 promoter methylation is associated with poorer overall survival in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 2011; 117(7): 1454-62.
- 42 Wang F, Song G, Liu M, Li X, Tang H. miRNA-1 targets fibronectin1 and suppresses the migration and invasion of the HEP2 laryngeal squamous carcinoma cell line. *FEBS Lett* 2011; 585(20): 3263-9.
- 43 Shen Z, Zhan G, Ye D, Ren Y, Cheng L, Wu Z, *et al.* MicroRNA-34a affects the occurrence of laryngeal squamous cell carcinoma by targeting the antiapoptotic gene survivin. *Med Oncol* 2012; 29(4): 2473-80.
- 44 Bian K, Fan J, Zhang X, Yang XW, Zhu HY, Wang L, *et al.* MicroRNA-203 leads to G1 phase cell cycle arrest in laryngeal carcinoma cells by directly targeting survivin. *FEBS Lett* 2012; 586(6): 804-9.
- 45 Li D, Feng J, Wu T, Wang Y, Sun Y, Ren J, *et al.* Long intergenic noncoding RNA HOTAIR is overexpressed and regulates PTEN methylation in laryngeal squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* 2013; 182(1): 64-70.
- 46 Feng J, Tian L, Sun Y, Li D, Wu T, Wang Y, *et al.* Expression of long non-coding ribonucleic acid metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript-1 is correlated with progress and apoptosis of laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck Oncol* 2012; 4(2): 46.
- 47 Silber J, Lim DA, Petritsch C, Persson AI, Maunakea AK, Yu M, *et al.* miR-124 and miR-137 inhibit proliferation of glioblastoma

- multiforme cells and induce differentiation of brain tumor stem cells. *BMC Med* 2008; 6(1): 14.
- 48 Gibb EA, Enfield KS, Stewart GL, Lonergan KM, Chari R, Ng RT, *et al.* Long non-coding RNAs are expressed in oral mucosa and altered in oral premalignant lesions. *Oral Oncol* 2011; 47(11): 1055-61.
- 49 Ng A, Tang JP, Goh CH, Hui KM. Regulation of the H19 imprinting gene expression in human nasopharyngeal carcinoma by methylation. *Int J Cancer* 2003; 104(2): 179-87.
- 50 Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, Squazzo SL, Xu X, Bruggmann SA, *et al.* Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell* 2007; 129(7): 1311-23.
- 51 Bhan A, Hussain I, Ansari KI, Kasiri S, Bashyal A, Mandal SS. Antisense transcript long noncoding RNA (lncRNA) HOTAIR is transcriptionally induced by estradiol. *J Mol Biol* 2013; 425(19):3707-22.
- 52 Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, *et al.* Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464(7291): 1071-6.
- 53 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, *et al.* Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011; 71(20): 6320-6.
- 54 Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F, *et al.* Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2011; 18(5): 1243-50.
- 55 Guo F, Li Y, Liu Y, Wang J, Li Y, Li G. Inhibition of metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in CaSki human cervical cancer cells suppresses cell proliferation and invasion. *Acta Biochim Biophys Sin* 2010; 42(3): 224-9.
- 56 Ji P, Diederichs S, Wang W, Böing S, Metzger R, Schneider PM, *et al.* MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2003; 22(39): 8031-41.
- 57 Gutschner T, Hammerle M, Diederichs S. MALAT1—a paradigm for long noncoding RNA function in cancer. *J Mol Med (Berl)* 2013; 91(7):791-801.
- 58 Tu HF, Lin SC, Chang KW. MicroRNA aberrances in head and neck cancer: Pathogenetic and clinical significance. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 21(2): 104-11.