

·综述·

DOI: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2018.03.010

# 功能性 lncRNAs 在鼻咽癌研究中的进展

周刘颖, 张鹏飞\*

(中南大学 湘雅医院 国家卫健委肿瘤蛋白质组学重点实验室, 中国湖南 长沙 410008)

**摘要:** 鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是中国南方和东南亚地区常见的恶性肿瘤之一。其发生与发展是多步骤、多因素、多基因共同作用的结果。长链非编码 RNAs (long non-coding RNAs, lncRNAs)是一类长度大于 200 个核苷酸且不编码蛋白质的转录本。研究发现, lncRNAs 功能失调与人类肿瘤的发生发展关系密切。随着高通量技术的发展,在鼻咽癌中发现了越来越多的功能性 lncRNAs。本文主要就已发现的功能性 lncRNAs 在鼻咽癌研究中的进展做综述。探明这些功能性 lncRNAs 对鼻咽癌的调控机制,将有助于深入揭示鼻咽癌的发生发展机制,也可为鼻咽癌的早期诊断和治疗提供新的思路。

**关键词:** 肿瘤; 鼻咽癌(NPC); 长链非编码 RNAs (lncRNAs); 作用机制

中图分类号: Q527, R739.63

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2018)03-0243-08

## Research Progresses of Functional lncRNAs in Nasopharyngeal Carcinoma

ZHOU Liu-ying, ZHANG Peng-fei\*

(Key Laboratory of Cancer Proteomics of National Health Commission, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan, China)

**Abstract:** Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is one of the common malignant tumors in southern China and Southeast Asia. Its occurrence and development is the result of multi-step, multi-factor and multi-gene interactions. Long non-coding RNAs (lncRNAs) are transcripts greater than 200 nucleotides in length but appear to lack protein-coding potential, and their dysfunction is closely related to the development and progression of human tumors. In recent years, with the development of high-throughput technology, more and more functional lncRNAs are found in nasopharyngeal carcinoma. Herein, the research progression of functional lncRNAs in nasopharyngeal carcinoma were summarized. Exploring the regulation mechanisms of lncRNAs in nasopharyngeal carcinoma will help reveal the development and progression of nasopharyngeal carcinoma, and can also provide a new method for primary diagnosis and treatment of nasopharyngeal carcinoma.

**Key words:** tumor; nasopharyngeal carcinoma (NPC); long non-coding RNAs (lncRNAs); mechanisms

(*Life Science Research*, 2018, 22(3): 243~250)

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是头颈部最常见的恶性肿瘤之一,具有明显的地域倾向,在世界范围内罕见,但是在北非、东南亚和东亚,尤其是中国广东,发病率特别高<sup>[1]</sup>。鼻咽癌是一种有高度转移和侵袭倾向的上皮癌,早期即可

发生淋巴结转移,多数患者发现时已至晚期<sup>[2,3]</sup>。目前,鼻咽癌主要依靠其独特的临床和病理特征来诊断。在治疗上,鼻咽癌对放疗和化疗敏感<sup>[4]</sup>。尽管放疗和化疗在治疗鼻咽癌上取得了各种进展,但并没有显著提高鼻咽癌患者的 5 年生存率<sup>[5]</sup>。

收稿日期:2017-11-06;修回日期:2018-01-18

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372516);湖南省自然科学基金资助项目(2016JJ5013)

作者简介:周刘颖(1993-),女,湖南郴州人,硕士研究生,主要从事鼻咽癌等恶性肿瘤的 lncRNAs 研究;\* 通讯作者:张鹏飞(1969-),男,湖南娄底人,博士,中南大学教授,主要从事鼻咽癌等恶性肿瘤癌变分子机制研究, Tel: 0731-84327239, E-mail: zhangpf690421@csu.edu.cn.

鼻咽癌的频繁复发和较差的预后对于临床来说仍然是巨大的挑战<sup>[6]</sup>。如何提高晚期鼻咽癌患者的生存率和改善患者生活质量是当今医学界的关键问题,此外,对于鼻咽癌患者的早期发现和早期治疗是改善预后并提高其治愈率的关键因素。近年来,研究人员发现了许多在鼻咽癌的发生发展过程中起着关键作用的功能性长链非编码 RNAs (long non-coding RNAs, lncRNAs), 探明这些功能性 lncRNAs 对鼻咽癌的调控机制,将有助于深入揭示鼻咽癌的发生发展机制,也可为鼻咽癌的早期诊断和早期治疗提供新的思路。

## 1 lncRNAs 概述

人类基因组计划及其后续 DNA 元件百科全书计划(The Encyclopedia of DNA Elements Project, ENCODE)研究结果表明,蛋白质编码基因序列仅占人类基因组序列的 1%~3%,人类基因组中绝大部分转录的序列为 lncRNAs<sup>[7]</sup>。lncRNAs 是一类长度在 200~1\*10<sup>5</sup> 个核苷酸(nt)的内源性非编码 RNAs,不能翻译成蛋白质<sup>[8]</sup>。根据 lncRNAs 所在的基因组位置,可大致分为五类: 1) 正义 lncRNAs; 2) 反义 lncRNAs; 3) 基因内 lncRNAs; 4) 基因间 lncRNAs; 5) 双向 lncRNAs。越来越多的研究表明 lncRNAs 可以作为分子信号、诱饵、指南、支架或增强子影响基因转录<sup>[9-11]</sup>。此外, lncRNAs 还有突出的生物学功能,例如基因组印记、细胞周期控制、分化调节、多能维持和发育调节<sup>[12-15]</sup>。这些发现表明 lncRNAs 可以通过各种机制参与细胞过程。

目前已经证明, lncRNAs 在许多癌症中异常表达,如肺癌<sup>[16]</sup>、肝癌<sup>[17]</sup>、神经母细胞瘤<sup>[18]</sup>等,通过调节多种致癌基因或肿瘤抑制基因的表达而参与癌症的发生和进展<sup>[19]</sup>。现已发现,在大多数肿瘤中, lncRNAs 能调节细胞生长、转移和细胞凋亡<sup>[20-22]</sup>,调控机制涉及转录水平、转录后水平或表观遗传水平<sup>[23, 24]</sup>。在影响肿瘤的发生发展过程中, lncRNAs 几乎能在每一步的基因表达中起调节作用,主要作用机制有: 1) 通过 DNA 甲基化、胞嘧啶的共价修饰和组蛋白修饰来实现对表观遗传的调控; 2) 通过控制转录的起始和延伸,调控特定基因的转录,加入 P53 网络来实现对 RNA 转录的调控; 3) 通过选择性剪接和 miRNA 海绵功能来实现对转录后 RNA 的加工; 4) 参与蛋白质翻译和翻译后蛋白质修饰。

## 2 lncRNAs 的研究方法概述

lncRNAs 的研究主要包括功能性 lncRNAs 的筛选以及 lncRNAs 的鉴别、表达验证、体内和体外功能研究、机制研究。lncRNAs 的功能和作用机制较为复杂,近年来出现了一系列技术以鉴定 lncRNAs 及解析 RNA 结构域、序列、结构和特征<sup>[25]</sup>。

其中,筛选功能性 lncRNAs 的方法包括: 1) 微阵列(microarray)和 RNA 测序(RNA-Seq),它们是高通量检测 lncRNAs 表达情况的有效工具; 2) 基于 RNA-蛋白质的相互作用筛选 lncRNAs,如:将 RNA 免疫共沉淀与微阵列(RNA immunoprecipitation chip, RIP-Chip)或测序(RIP-Seq)结合起来、交联免疫沉淀和高通量测序(CLIP-Seq)等。

鉴别 lncRNAs 的方法有: 1) 克隆 lncRNAs 的序列全长; 2) 预测 lncRNAs 的编码潜能; 3) 核糖体富集测定; 4) lncRNAs 的亚细胞定位,包括:分馏 q-PCR 和荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)。验证微阵列和测序结果的真实性以及检测 lncRNAs 的表达,可采用的方法有: Northern 印迹、qRT-PCR、原位杂交(in situ hybridization, ISH)和 FISH。

研究编码基因在细胞中功能的方法,同样能用在 lncRNAs 的功能研究中。识别细胞功能的典型方法是调控 lncRNAs 表达,包括功能丧失和功能增益。功能丧失的方法有: 1) 利用干扰小 RNA (small interfering RNA, siRNA)和短发夹 RNA (short hairpin RNA, shRNA)进行 RNAi 技术; 2) 反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASOs); 3) 以 CRI-SPR/Cas 系统为基础的方法。功能增益的方法主要是过表达特定的 lncRNA。

调控基因表达的 lncRNAs 通常定位于染色体。为明确 lncRNAs 在染色质上的作用,确定基因组上的 lncRNAs 结合位点是很有必要的。其中主要方法有: 1) RNA 纯化的染色体分离-测序(chromatin isolation by RNA purification, ChiRP-Seq); 2) RNA 靶标捕获杂交分析-测序(CHART-Seq); 3) RNA 反义纯化-测序(RNA-Seq analysis pipeline, RAP-Seq)。

RNA-蛋白质相互作用的研究可从以下两方面着手: 确定 lncRNA 绑定的蛋白质组; 确定 RNA-蛋白质-DNA 的相互作用。对于前者,可通过结合质谱的 RNA 色谱法进行; 对于后者,其相关的方法较多,具体见表 1。

表 1 鉴定 lncRNA-蛋白质-DNA 相互作用的方法  
Table 1 Methods for identifying lncRNA-protein-DNA interactions

方法 Method	应用 Application	特点 Characteristics
RIP	检测体内 RNA-蛋白质相互作用 <i>In vivo</i> detection of RNA-protein interactions	可使用抗体对目的蛋白进行免疫沉淀, 其中与蛋白质绑定的 RNA 可以通过实时 PCR、微阵列或测序进行分离和检测。 RIP involves immunoprecipitation of an interesting protein with the use of antibody. RNAs bound to the protein will be isolated and detected by real-time PCR, microarray or sequencing.
RNA pulldown	检测体外 RNA-蛋白质相互作用 <i>In vitro</i> detection of RNA-protein interactions	使用转录的 RNA 或合成的 RNA 用于体外标记并选择性捕获与标记 RNA 结合的蛋白质。 RNA pulldown uses transcribed RNAs or synthetic RNAs <i>in vitro</i> to label and selectively capture proteins which are bound with labeled RNA.
CLIP	捕获体内 RNA-蛋白质相互作用 <i>In vivo</i> capture of RNA-protein interactions	除了在免疫沉淀前一步添加了 UV 交联, CLIP 类似于 RIP, 特异地、不可逆地将蛋白质与非常接近的 RNAs 连接起来。 CLIP is similar to RIP, except it adds a UV cross-linking step before immunoprecipitation, which specifically and irreversibly links proteins to RNAs that are in very close proximity.
ChiRP	映射染色质相关的 lncRNA 在基因组上的结合位点 Map the binding sites of chromatin-associated lncRNAs on a genome	ChiRP, CHART 和 RAP 都使用与目的 RNA 互补的生物素化寡核苷酸去下拉相关蛋白质和染色质。ChiRP 使用相对短的反义 DNA 寡核苷酸进行捕获并从细胞中纯化特异性的 lncRNA-染色质复合物。 ChiRP, CHART and RAP all use biotinylated oligonucleotides complementary to the RNA of interest to pull down associated proteins and chromatin. ChiRP uses relatively short antisense DNA oligonucleotides to capture and purify specific lncRNA-chromatin complexes from the cell.
CHART	识别 lncRNA 在基因组的靶标 Identify the targets of lncRNAs on a genome	用几种短 DNA 为基础的寡核苷酸靶向 RNA, 并识别与目的 RNA 交联的基因组 DNA 和蛋白质; 使用 RNase H 切割由捕获的寡核苷酸与靶标 RNA 杂交形成的 RNA-DNA 异源双链。 CHART targets the RNA with a few short DNA-based oligonucleotides and identifies genomic DNA and proteins cross-linked to the RNA of interest. CHART uses RNase H to cleave RNA-DNA heteroduplexes created by hybridization of the capture oligonucleotide to the target RNA.
RAP	识别 lncRNA 在基因组的靶标 Identify the targets of lncRNAs on a genome	使用相对较长的捕获探针平铺地穿过整个靶标 RNA, 鉴定蛋白质、RNA 和 DNA 与靶标 RNA 交联并与其共同纯化的位点。 RAP can identify the sites of protein, RNA, and DNA that cross-link and co-purify with the target RNA, in which a relatively long capture probe is used and has to pass through the entire target RNA.

lncRNAs 的体内功能研究主要依靠 lncRNAs 的动物模型, 比较常见的主要有: 基因工程鼠(genetically engineered mouse, GEM)模型; 肿瘤异种移植模型。

### 3 在鼻咽癌中发挥重要作用的 lncRNAs

系统了解 lncRNAs 在不同细胞类型不同病理条件下的表达情况, 筛选差异表达的 lncRNAs 是研究 lncRNAs 的第一步。一般来说, 过度表达的 lncRNAs 被称为促癌 lncRNAs, 而表达下调的 lncRNAs 称为抑癌 lncRNAs。

#### 3.1 在鼻咽癌中发挥促癌作用的 lncRNAs

##### 3.1.1 ANRIL

ANRIL (antisense non-coding RNA in the INK4 locus, 也称为 CDKN2B-AS)是由 19 个外显子组成的 3 834 nt RNA, 从位于染色体 9p21 处的 INK4B-ARF-INK4A 基因簇反义链中转录而来。ANRIL

最初是从家族性黑素瘤患者中鉴定出来的, 之后越来越多的研究表明, 它在各种恶性肿瘤中异常表达, 如: 胃癌、乳腺癌、肺癌、膀胱癌、卵巢癌等。

Zou 等<sup>[26]</sup>研究发现, ANRIL 在 NPC 组织和细胞中表达上调。多变量分析显示, ANRIL 的表达可作为总体生存率( $P=0.027$ )和无病生存率( $P=0.033$ )的独立预测因子。ANRIL 可以诱导增加侧群体细胞(SP 细胞)在 NPC 细胞中的百分比。ANRIL 主要通过两个方面来促进 NPC 的进展: 一是通过调节 mTOR 信号通路来影响糖酵解中必需基因的表达, 重新编程细胞葡萄糖代谢; 二是诱导产生侧群干细胞样癌细胞。

有明确的证据表明 lncRNAs 可作为 miRNA 的分子海绵, 并负调节其表达。Wang 等<sup>[27]</sup>研究发现, 在 NPC 组织和细胞中, ANRIL 表达上调而 miR-let-7a 表达下调。荧光素酶测定显示 ANRIL 可以负调节 miR-let-7a 表达。此外, ANRIL 的敲

低可抑制 NPC 细胞的致瘤性并通过调节 NPC 细胞中的 miR-let-7a 来提高顺铂(cisplatin, CDDP)所致的细胞毒性。

Hu 等<sup>[28]</sup>研究发现, 在 NPC 细胞系中, ANRIL 的表达上升但 miR-125a 的表达下调。作为 miR-125a 的竞争内源性 RNAs (competing endogenous RNAs, ceRNAs), ANRIL 敲低可抑制 NPC 细胞的增殖, 诱导其凋亡, 增强其放射敏感性; 而 ANRIL 过表达可逆转 miR-125a 对 NPC 细胞增殖、凋亡以及放射敏感性的影响。

### 3.1.2 MALAT1

MALAT1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, 肺腺癌转移相关转录本 1) 长度大约为 8 700 nt, 定位于人类染色体 11q13.1, 属于基因间 lncRNAs。其最早是在非小细胞肺癌的研究中被发现, 在健康人组织中广泛表达, 而在各种肿瘤患者组织中的表达水平更高, 如: 前列腺癌、膀胱癌、乳腺癌和 NPC 等。

Jin 等<sup>[29]</sup>研究发现, MALAT1 在 NPC 细胞系和组织中显著上调。MALAT1 促进癌症进展, 而且 MALAT1 的相对表达量与患者的整体生存时间呈负相关。体内和体外实验显示, 敲低 MALAT1 可使 NPC 细胞凋亡增加, 使 NPC 细胞对辐射敏感增强。研究者还发现, MALAT1 通过调控肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)来调节 NPC 细胞对辐射的敏感性。此外, 在 MALAT1 和 miR-1 之间存在相互抑制, 加上凋亡相关蛋白质 slug 被鉴定为 miR-1 的下游靶标。研究者得出, MALAT1 可作为 miR-1 的 ceRNAs 来调节 slug 的表达, 从而调节 CSC 活性和放射抗性。

### 3.1.3 AFAP1-AS1

AFAP1-AS1 (actin filament associated protein 1 antisense RNA1, 肌动蛋白丝相关蛋白 1 反义 RNA1) 位于 AFAP1 蛋白编码基因的反义链处, AFAP1-AS1 第二外显子和 AFAP1 外显子 14、15 和 16 之间有重叠和互补区域。AFAP1 是连接到其他蛋白质的分子适配器, 调节肌动蛋白丝完整性的变化以及诱导鳞状细胞形成。

Bo 等<sup>[30]</sup>研究发现, AFAP1-AS1 表达在 NPC 中上调, 与 NPC 转移和预后不良有关。体外实验表明: 敲低 AFAP1-AS1 显著抑制 NPC 细胞迁移和侵袭能力, 但是会增加 AFAP1 蛋白的表达。蛋白质组学和生物信息学分析表明 AFAP1-AS1 影响几个小 GTP 酶家族成员和肌动蛋白的表达。以

上研究提示, AFAP1-AS1 通过调节肌动蛋白丝完整性来促进癌细胞转移。

### 3.1.4 Hotair

Hotair (HOX transcript antisense intergenic RNA, HOX 转录反义 RNA) 位于人类染色体 12q13.13, 长度约为 2 200 bp。它最早被发现在乳腺癌中高表达, 在其他肿瘤中也检测到 Hotair 的异常上调, 如结肠直肠癌、宫颈癌、膀胱癌、肝细胞癌、胃肠道间质瘤和胰腺癌。其高表达与这些癌症的不良预后、进展和复发呈正相关。有研究报道, Hotair 是一个标志着 NPC 进展和存活的独立预后标记<sup>[31]</sup>。

Fu 等<sup>[32]</sup>研究发现, lncRNA Hotair 在 NPC 细胞和组织中表达上调。进一步的研究表明 Hotair 敲低可显著减弱体外和体内肿瘤细胞生长和血管生成。此外, Hotair 可通过直接激活血管生成因子 VEGFA 的转录来促进血管生成, 也可通过上调 GRP78 介导的 VEGFA 和 Ang2 的表达来促进血管生成。

### 3.1.5 HNF1A-AS

HNF1A-AS (HNF1A-antisense) 位于 12 号染色体上, 长度为 2 455 bp。HNF1A-AS 最开始被发现, 是因为它能调节食管腺癌细胞<sup>[33]</sup>和肺腺癌细胞<sup>[34]</sup>的增殖与迁移。Zhuang 等<sup>[35]</sup>研究发现, HNF1A-AS 在 NPC 组织和细胞系中的表达都上调。HNF1A-AS 敲低可抑制细胞增殖和迁移能力。裸鼠的皮下移植瘤模型表明, HNF1A-AS 敲低可抑制肿瘤生长。细胞周期分析显示, HNF1A-AS 敲低导致 G0/G1 期的细胞积累。此外, 该研究还发现敲低 HNF1A-AS 可逆转上皮间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的过程。

### 3.1.6 H19

H19 位于人类染色体 11p15.5, 20 年前被鉴定为印记基因, 最近发现与肿瘤转移相关。H19 在多种癌症中表达上调, 如胃癌、膀胱癌、胰腺导管腺癌、食管癌、结肠直肠癌和乳腺癌, 可影响细胞增殖、凋亡、侵袭和 EMT 过程。

Li 等<sup>[36]</sup>研究发现, H19 在 NPC 组织和低分化的细胞系中表达上调, 敲低 H19 可显著抑制 NPC 细胞的侵袭能力。H19 可影响 zeste 基因增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2) 的表达, 而 EZH2 在 NPC 细胞中上调并促进细胞侵袭。进一步研究显示, H19 与 EZH2 不是直接相互作用, 而是通过抑制 miR-630 的活性来调节 EZH2 表达, miR-630 是 EZH2 的阻遏物并以序列特异性

方式与 H19 相互作用。此外,通过 miR-630/EZH2 通路, H19 可抑制 E-钙粘蛋白表达,促进 NPC 细胞的侵袭。

### 3.1.1.7 NEAT1

NEAT1 (nuclear enriched abundant transcript 1, 核富集的丰富转录本 1)已发现在许多癌症中表达上调,包括乳腺癌、前列腺癌、结直肠癌等,并与癌症进展相关。例如,在前列腺癌中,NEAT1 能够通过改变靶基因启动子的表观遗传来促进肿瘤进展<sup>[37]</sup>。

Lu 等<sup>[38]</sup>研究发现,NEAT1 在 NPC 细胞系和 NPC 组织中显著上调。敲低 NEAT1 可使 NPC 细胞对放射敏感。进一步研究发现,NEAT1 可通过调节 EMT 表型来影响放射抗性,而且 NEAT1 和 miR-204 之间能相互抑制。此外,ZEB1 是 miR-204 的下游靶标,而 NEAT1 可通过负调节 miR-204 的表达来上调 ZEB1 表达。因此,研究认为:NEAT1 通过调节 miR-204/ZEB1 轴来调控 NPC 的 EMT 表型和放射抵抗性。

### 3.1.1.8 ROR

ROR 长度为 2.6 kb,位于染色体 18,由 4 个外显子组成。有研究发现,它在癌症中表达上调并促进肝癌、乳腺癌和神经胶质瘤的进展。例如,ROR 对缺氧敏感,它在肝细胞癌中的功能与低氧信号有关,通过 miR-145 HIF-1 信号模块起作用。ROR 通过防止细胞应激通路的活化(包括 p53 应答),在调节乳腺癌的过程中起关键作用<sup>[39]</sup>。

ROR 与 NPC 的增殖、转移和凋亡密切相关。Li 等<sup>[40]</sup>研究发现,ROR 在 NPC 组织和细胞中的表达显著上调。其通过影响 EMT 程序,促进 NPC 迁移和侵袭。此外,研究还发现:上调 ROR,使 NPC 细胞对顺铂起临界耐药作用,因为 ROR 可通过 p53 途径增强 NPC 化疗能力。

### 3.1.1.9 EWSAT1

EWSAT1 (Ewing sarcoma associated transcript 1, 尤文肉瘤相关转录物 1)位于染色体 15,在 NOX5 和 GLCE 两个蛋白质的编码基因之间,最早在尤文肉瘤中研究发现。EWSAT1 在尤文肉瘤中表达上调,有致癌的作用<sup>[41]</sup>。

Song 等<sup>[42]</sup>研究发现,EWSAT1 在 NPC 组织和细胞系中表达上调,EWSAT1 高表达的 NPC 患者,其生存时间明显较短。进一步研究显示,EWSAT1 过表达促进了 NPC 细胞生长,而 EWSAT1 敲低产生相反的效应。此外,机制分析表明,EWSAT1

可作为 miR-326/330-5p 簇的 ceRNAs,调节其表达,靶向细胞周期蛋白 D1。以上研究提示,EWSAT1 可作为 miR-326/330-5p 簇的 ceRNAs 来部分上调细胞周期蛋白 D1,从而促进 NPC 细胞在体外的生长。

### 3.1.1.10 CASC9

CASC9 (cancer susceptibility candidate 9)位于人类染色体 8q21.11,最初被确定为食管鳞状细胞癌相关的 lncRNA。

Su 等<sup>[43]</sup>研究发现,CASC9 在 NPC 组织中高度表达,其促进细胞生长并与癌症患者不良预后相关。之前有研究表明,HIF1 $\alpha$  通过激活癌细胞糖酵解代谢的靶基因表达,来适应细胞对低氧条件的反应。而 CASC9 可以与 HIF1 $\alpha$  相互作用并增强 HIF1 $\alpha$  的稳定性。此外,过表达 CASC9 可激活 HIF1 $\alpha$ ,从而促进糖酵解代谢途径和 NPC 细胞的肿瘤发生。

### 3.1.1.11 其他 lncRNAs

XIST (X-inactive specific transcript, X 灭活特异性转录本)是一种来自 XIST 基因的 lncRNA,被发现在多种肿瘤中表达上调,包括卵巢癌、非小细胞肺癌、胶质母细胞瘤、乳腺癌和肝细胞癌。Song 等<sup>[44]</sup>研究发现,XIST 在 NPC 组织和细胞系中表达上调,XIST 高表达的 NPC 患者,其生存时间明显较短。多变量分析表明,XIST 是 NPC 患者预后的独立危险因素。过表达 XIST 可促进 NPC 的细胞生长,而敲低 XIST 产生相反效应。此外,XIST 可作为 miR-34a-5p 的 ceRNAs 上调基因 E2F3 的表达。

LINC01420 位于染色体 X (p11.21)。Yang 等<sup>[45]</sup>研究发现,LINC01420 在 NPC 组织中的表达水平高于鼻咽上皮组织。此外,高 LINC01420 表达的 NPC 患者,其总生存时间明显较短。敲低 LINC01420 可抑制体外 NPC 细胞迁移和侵袭。

C22orf32-1 位于人染色体 22,长度为 545 bp。目前,至少有 27 种疾病与 22 号染色体相关,尤其是恶性肿瘤包括急性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病和恶性横纹肌瘤。Nie 等<sup>[46]</sup>研究发现,C22orf32-1 的表达在 NPC 细胞系和 NPC 组织中上调。此外,C22orf32-1 可以促进 NPC 细胞的扩散、迁移和侵袭,抑制 NPC 细胞凋亡。

HULC (highly upregulated in liver cancer)位于人染色体 6p24.3,最早从肝细胞癌中鉴定出来。Jiang 等<sup>[47]</sup>研究发现,HULC 在 NPC 细胞系和组织

中高表达, HULC 的表达与 NPC 患者的预后呈负相关。过表达 HULC 可促进 NPC 细胞生长; 敲低 HULC 可活化 p53 并诱导增加 p21 的表达, 最终导致细胞周期停滞和细胞凋亡。

LOC100129148 位于人染色体 7q34, 长度为 463 bp。Sun 等<sup>[48]</sup>研究发现, LOC100129148 在 NPC 组织和细胞系中表达上调, 并且 LOC100129148 表达较高的患者, 其生存时间明显较短。过表达 LOC100129148 可促进 NPC 细胞增殖, 而敲低 LOC100129148 则产生相反的效应。此外, LOC-100129148 可作为 miR-539-5p 的 ceRNAs, 增强 KLF12 表达。

### 3.2 在鼻咽癌中发挥抑癌作用的 lncRNAs

#### 3.2.1 LET

LET 在宫颈癌、胃癌和胆囊癌等癌组织中表达下调, 在缺氧环境诱导下, 组蛋白去乙酰化酶 3 (histone deacetylase 3, HDAC3) 通过对 LET 启动子区的组蛋白去乙酰化来抑制 LET 的表达, 致使与 LET 结合后通过泛素化修饰被降解的核因子 90 (nuclear factor 90, NF90) 稳定存在, NF90 可促进癌细胞的侵袭。

Sun 等<sup>[49]</sup>研究发现, LET 在 NPC 组织和细胞中显著下调。LET 的表达与临床分期、肿瘤的大小、淋巴结肿瘤负荷呈负相关, 与 NPC 患者生存率呈正相关。过表达 LET 可抑制 NPC 细胞增殖, 同时诱导细胞凋亡, 而敲低 LET 可产生相反的效应。此外, 研究者还发现, LET 启动子区的转录被 EZH2-介导的 H3K27 组蛋白甲基化抑制。在 NPC 组织中, EZH2 和 LET 的表达有显著的负相关。以上结果提示: EZH2 通过对 LET 启动子区的组蛋白甲基化修饰间接抑制 LET 的表达。

#### 3.2.2 MEG3

MEG3 (maternally expressed gene 3, 母体表达基因 3) 是一个位于染色体 14q32 内的印迹基因, 是 NPC 中常见的缺失区。

Chak 等<sup>[50]</sup>研究发现, 异常启动子甲基化导致 MEG3 失活。MEG3 的异常表达, 抑制体外 NPC 细胞系的生长和体内 NPC 细胞的致瘤性, 并且可以显著抑制细胞增殖、集落形成, 还可导致细胞周期的停滞。此外, 研究者还发现, MEG3 可以激活 NPC 细胞中的 p53 通路。

#### 3.2.3 LINC0086

Guo 等<sup>[51]</sup>研究发现, LINC0086 的表达在 NPC 患者血清样本和组织中有所下降。LINC0086 高表

达的患者有较高的存活率。LINC0086 表达与 NPC 组织学分期、淋巴结转移和临床分期相关。

过表达 LINC0086 抑制 NPC 细胞增殖并促进细胞凋亡。研究者在 LINC0086 的 3'UTR 中发现了 miR-214 的结合位点。上调 LINC0086 可降低 C666-1 和 HK-1 细胞中 miR-214 的表达。研究者还发现 LINC0086 可以直接与 miR-214 相互作用以降低 miR-214 的表达, 从而验证了 RNA 诱导沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 中存在 miR-214 和 LINC0086 的观点。此外, 在体外和体内实验中, 过表达 miR-214 可逆转 LINC0086 对 NPC 细胞生长的抑制作用。

#### 3.2.4 LOC401317

Gong 等<sup>[52]</sup>通过建立过表达 TP53 的 HNE2 鼻咽癌细胞系, 分析 lncRNA 表达谱发现, 有 133 个 lncRNAs 上调, 而 1 057 个 lncRNAs 则下调。在这些异常表达的 lncRNAs 之中, LOC401317 是上调最显著的一个。

进一步的研究表明, LOC401317 由 p53 直接调控, LOC401317 的异常表达通过诱导细胞周期阻滞和细胞凋亡, 抑制体外和体内的 HNE2 细胞增殖。LOC401317 通过增加 p21 表达和减少细胞周期蛋白 D1 和 E1 的表达来抑制细胞周期进程, 并通过诱导聚合酶 (ADP-ribose) 和半胱天冬酶-3 切割来促进细胞凋亡。这些结果表明 LOC401317 由 p53 直接调控, 并在 HNE2 细胞中发挥抑癌作用。

## 4 总结与展望

鼻咽癌是头颈部最常见的恶性肿瘤之一, 有高度转移和侵袭倾向, 并且有明显的地域分布特征。近年来, 研究人员在鼻咽癌中发现了许多异常表达的 lncRNAs, 且发现这些 lncRNAs 在鼻咽癌的发生发展过程中起着关键的作用。高通量技术的出现, 使得研究人员能够筛选功能性 lncRNAs。而之后一系列 lncRNAs 研究技术的发展, 使得研究人员可以深入解析 RNA 结构域、序列、结构、特征和作用机制。目前的研究虽然揭示了 lncRNAs 在鼻咽癌中的部分功能, 但是其在鼻咽癌中的功能及作用机制仍然需要大量的研究。并且目前已发现的与鼻咽癌有关的 lncRNAs 只是 lncRNAs 总数的冰山一角。在之后的研究中, 随着技术的不断改进, 相信对 lncRNAs 在分子水平的功能及作用机制的认识将会更为全面和深入, 从而为鼻咽癌发病机制的研究以及临床治疗提供新的思

路,并有望提供新的预后相关标记物和药物治疗的靶点。

### 参考文献(References):

- [1] Lin J H, Jiang C Q, Ho S Y, *et al.* Smoking and nasopharyngeal carcinoma mortality: a cohort study of 101, 823 adults in Guangzhou, China[J]. *BioMed Centralmc Cancer*, 2015, 15: 906.
- [2] Zhang Y, Liu X, Zhang Y, *et al.* Prognostic value of the primary lesion apparent diffusion coefficient (ADC) in nasopharyngeal carcinoma: a retrospective study of 541 cases[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 12242.
- [3] 张鹏飞, 曾谷清, 易红, 等. 鼻咽癌 5-8F 细胞膜蛋白质组初步分析[J]. *生命科学研究(Zhang Peng-fei, Zeng Gu-qing, Yi Hong, et al. A preliminary analysis of plasma membrane proteome of nasopharyngeal carcinoma cell 5-8F[J]. Life Science Research)*, 2012, 16(4): 333-339, 376.
- [4] Blanchard P, Lee A, Marguet S, *et al.* Chemotherapy and radiotherapy in nasopharyngeal carcinoma: an update of the MAC-NPC meta-analysis[J]. *Lancet Oncology*, 2015, 16(6): 645-655.
- [5] Fang Y, Zhu X, Wang J, *et al.* MiR-744 functions as a proto-oncogene in nasopharyngeal carcinoma progression and metastasis via transcriptional control of ARHGAP5[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(15): 13164-13175.
- [6] Xu T, Tang J, Gu M, *et al.* Recurrent nasopharyngeal carcinoma: a clinical dilemma and challenge[J]. *Current Oncology*, 2013, 20(5): e406-e419.
- [7] Maher B. ENCODE: the human encyclopaedia[J]. *Nature*, 2012, 489(7414): 46-48.
- [8] Necsculea A, Soumillon M, Warnefors M, *et al.* The evolution of lncRNA repertoires and expression patterns in tetrapods[J]. *Nature*, 2014, 505(7485): 635-640.
- [9] Wang K C, Chang H Y. Molecular mechanisms of long non-coding RNAs[J]. *Molecular Cell*, 2011, 43(6): 904-914.
- [10] Moran V A, Perera R J, Khalil A M. Emerging functional and mechanistic paradigms of mammalian long non-coding RNAs[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(14): 6391-6400.
- [11] Yang L, Froberg J E, Lee J T. Long noncoding RNAs: fresh perspectives into the RNA world[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2014, 39(1): 35-43.
- [12] Guttman M, Donaghey J, Carey B W, *et al.* lincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation[J]. *Nature*, 2011, 477(7364): 295-300.
- [13] Hung T, Wang Y, Lin M F, *et al.* Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters[J]. *Nature Genetics*, 2011, 43(7): 621-629.
- [14] Wang K C, Yang Y W, Liu B, *et al.* A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression[J]. *Nature*, 2011, 472(7341): 120-124.
- [15] Quinodoz S, Guttman M. Long noncoding RNAs: an emerging link between gene regulation and nuclear organization[J]. *Trends in Cell Biology*, 2014, 24(11): 651-663.
- [16] Ji P, Diederichs S, Wang W, *et al.* MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer[J]. *Oncogene*, 2003, 22(39): 8031-8041.
- [17] Matouk I J, Abbasi I, Hochberg A, *et al.* Highly upregulated in liver cancer noncoding RNA is overexpressed in hepatic colorectal metastasis[J]. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 2009, 21(6): 688-692.
- [18] Koshimizu T A, Fujiwara Y, Sakai N, *et al.* Oxytocin stimulates expression of a noncoding RNA tumor marker in a human neuroblastoma cell line[J]. *Life Sciences*, 2010, 86(11-12): 455-460.
- [19] Yin D, He X, Zhang E, *et al.* Long noncoding RNA GAS5 affects cell proliferation and predicts a poor prognosis in patients with colorectal cancer[J]. *Medical Oncology*, 2014, 31(11): 253.
- [20] Hirata H, Hinoda Y, Shahryari V, *et al.* Long noncoding RNA MALAT1 promotes aggressive renal cell carcinoma through EZH2 and interacts with miR-205[J]. *Cancer Research*, 2015, 75(7): 1322-1331.
- [21] Yuan J H, Yang F, Wang F, *et al.* A long noncoding RNA activated by TGF-beta promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(5): 666-681.
- [22] Xu T P, Liu X X, Xia R, *et al.* SP1-induced upregulation of the long noncoding RNA TINCR regulates cell proliferation and apoptosis by affecting KLF2 mRNA stability in gastric cancer[J]. *Oncogene*, 2015, 34(45): 5648-5661.
- [23] Geisler S, Collier J. RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2013, 14(11): 699-712.
- [24] Roberts T C, Morris K V, Weinberg M S. Perspectives on the mechanism of transcriptional regulation by long non-coding RNAs[J]. *Epigenetics*, 2014, 9(1): 13-20.
- [25] Li Z, Fu S, Sun L Q. Viral noncoding RNAs in cancer biology[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2016, 927: 367-389.
- [26] Zou Z W, Ma C, Medoro L, *et al.* LncRNA ANRIL is up-regulated in nasopharyngeal carcinoma and promotes the cancer progression via increasing proliferation, reprogramming cell glucose metabolism and inducing side-population stem-like cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(38): 61741-61754.
- [27] Wang Y, Cheng N, Luo J. Downregulation of lncRNA ANRIL represses tumorigenicity and enhances cisplatin-induced cytotoxicity via regulating microRNA let-7a in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2017: e21904.
- [28] Hu X, Jiang H, Jiang X. Downregulation of lncRNA ANRIL inhibits proliferation, induces apoptosis, and enhances radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma cells through regulating miR-125a[J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2017, 18(5): 331-338.
- [29] Jin C, Yan B, Lu Q, *et al.* The role of MALAT1/miR-1/slug axis on radioresistance in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Tumour Biology*, 2016, 37(3): 4025-4033.

- [30] Bo H, Gong Z, Zhang W, *et al.* Upregulated long non-coding RNA AFAP1-AS1 expression is associated with progression and poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(24): 20404–20418.
- [31] Nie Y, Liu X, Qu S, *et al.* Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker for nasopharyngeal carcinoma progression and survival[J]. *Cancer Science*, 2013, 104(4): 458–464.
- [32] Fu W M, Lu Y F, Hu B G, *et al.* Long noncoding RNA Hotair mediated angiogenesis in nasopharyngeal carcinoma by direct and indirect signaling pathways[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(4): 4712–4723.
- [33] Yang X, Song J H, 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.
- [34] 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.
- [35] Zhuang K, Wu Q, Jin C S, *et al.* Long non-coding RNA HNF1A-AS is upregulated and promotes cell proliferation and metastasis in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer Biomarkers*, 2016, 16(2): 291–300.
- [36] Li X, Lin Y, Yang X, *et al.* Long noncoding RNA H19 regulates EZH2 expression by interacting with miR-630 and promotes cell invasion in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 473(4): 913–919.
- [37] Chakravarty D, Shoner A, Nair S S, *et al.* The oestrogen receptor alpha-regulated lncRNA NEAT1 is a critical modulator of prostate cancer[J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 5383.
- [38] Lu Y, Li T, Wei G, *et al.* The long non-coding RNA NEAT1 regulates epithelial to mesenchymal transition and radioresistance in through miR-204/ZEB1 axis in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Tumour Biology*, 2016, 37(9): 11733–11741.
- [39] Zhang A, Zhou N, Huang J, *et al.* The human long non-coding RNA-RoR is a p53 repressor in response to DNA damage[J]. *Cell Research*, 2013, 23(3): 340–350.
- [40] Li L, Gu M, You B, *et al.* Long non-coding RNA ROR promotes proliferation, migration and chemoresistance of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer Science*, 2016, 107(9): 1215–1222.
- [41] Marques H M, Simpson D, Ngok S P, *et al.* Long noncoding RNA EWSAT1-mediated gene repression facilitates Ewing sarcoma oncogenesis[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2014, 124(12): 5275–5290.
- [42] Song P, Yin S C. Long non-coding RNA EWSAT1 promotes human nasopharyngeal carcinoma cell growth in vitro by targeting miR-326/330-5p[J]. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8(11): 2948–2960.
- [43] Su X, Li G, Liu W. The long noncoding RNA cancer susceptibility candidate 9 promotes nasopharyngeal carcinogenesis via stabilizing HIF1alpha[J]. *DNA and Cell Biology*, 2017, 36(7): 596–602.
- [44] Song P, Ye L F, Zhang C, *et al.* Long non-coding RNA XIST exerts oncogenic functions in human nasopharyngeal carcinoma by targeting miR-34a-5p[J]. *Gene*, 2016, 592(1): 8–14.
- [45] Yang L, Tang Y, He Y, *et al.* High expression of LINC01420 indicates an unfavorable prognosis and modulates cell migration and invasion in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Journal of Cancer*, 2017, 8(1): 97–103.
- [46] Nie G H, Li Z, Duan H F, *et al.* lncRNA C22orf32-1 contributes to the tumorigenesis of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncology Letters*, 2017, 13(6): 4487–4492.
- [47] Jiang X, Liu W. Long noncoding RNA highly upregulated in liver cancer activates p53-p21 pathway and promotes nasopharyngeal carcinoma cell growth[J]. *DNA and Cell Biology*, 2017, 36(7): 596–602.
- [48] Sun K Y, Peng T, Chen Z, *et al.* Long non-coding RNA LOC100129148 functions as an oncogene in human nasopharyngeal carcinoma by targeting miR-539-5p[J]. *Aging (Albany NY)*, 2017, 9(3): 999–1011.
- [49] Sun Q, Liu H, Li L, *et al.* Long noncoding RNA-LET, which is repressed by EZH2, inhibits cell proliferation and induces apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cell[J]. *Medical Oncology*, 2015, 32: 226.
- [50] Chak W P, Lung R W, Tong J H, *et al.* Downregulation of long non-coding RNA MEG3 in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2017, 56(3): 1041–1054.
- [51] Guo J, Ma J, Zhao G, *et al.* Long non-coding RNA LINC0086 functions as a tumor suppressor in nasopharyngeal carcinoma by targeting miR-214[J]. *Oncology Research*, 2017, 25(7): 1189–1197.
- [52] Gong Z, Zhang S, Zeng Z, *et al.* LOC401317, a p53-regulated long non-coding RNA, inhibits cell proliferation and induces apoptosis in the nasopharyngeal carcinoma cell line HNE2[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e110674.