

卵巢癌与非编码 RNA 研究进展

揭嘉慧¹, 张颖²

(1. 广东医科大学, 广东 湛江 524002;

2. 广东医科大学附属医院, 广东 湛江 524002)

摘要: 卵巢癌是全球女性因癌症死亡的第 5 大病因, 尽早明确诊断并积极治疗是改善预后的有效方法。随着测序技术的不断发展, 人们发现了大量的种类丰富的非编码 RNA。ncRNAs 在细菌、真菌和哺乳动物等多种生物体的活动中可作为致癌驱动因子和肿瘤抑制因子, 对肿瘤的发生、发展起到调控作用, ncRNA 有望成为肿瘤诊治的新型生物标志物和治疗靶点。探索 ncRNA 可为卵巢癌的研究提供一些系统性新思路。现将卵巢癌相关 ncRNA 最新研究进展进行综述, 并着重讨论微小 RNA (miRNA)、长链非编码 RNA (lncRNA) 及环状 RNA (circRNA) 在卵巢癌中的作用。

关键词: 卵巢癌; 非编码 RNA; ncRNAs; 肿瘤抑制因子

中图分类号: R737.31

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2019.05.014

文章编号: 1006-1959(2019)05-0039-04

Progress in Research on Ovarian Cancer and Non-coding RNA

JIE Jia-hui¹, ZHANG Ying²

(1. Guangdong Medical University, Zhanjiang 524002, Guangdong, China;

2. the Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524002, Guangdong, China)

Abstract: Ovarian cancer is the fifth leading cause of female cancer death in the world. Early diagnosis and active treatment are effective methods to improve prognosis. With the development of sequencing technology, it has been discovered that a large number of non-coding RNA. ncRNAs can be used as carcinogenic driver and tumor suppressor in the activities of bacteria, fungi and mammals. ncRNA is expected to be a new biomarker and therapeutic target for tumor diagnosis and treatment. Exploring ncRNA may provide some systematic new ideas for the study of ovarian cancer. In this paper, the latest research progress of ovarian cancer-related ncRNA is reviewed, and the role of micro-RNA (miRNA), long-chain non-coding RNA (lncRNA) and cyclic RNA (circRNA) in ovarian cancer is emphatically discussed.

Key words: Ovarian cancer; Non-coding RNA; ncRNAs; Tumor suppressor

卵巢癌(ovarian cancer, OvCa)是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一, 据统计每年约有 22 万名女性被诊断患有 OvCa, 约有 14 万人死于 OvCa, 占有癌症死亡人数的 2.3%^[1]。晚期 OvCa 患者的生存率预后极差, 但早期发现仍有治愈的机会^[2]。目前对于卵巢肿瘤鉴别诊断常见方法包括妇科检查、妇科 B 超、血清肿瘤标志物如 CA125、CA199、盆腔磁共振等。其中 CA125、妇科 B 超在鉴别诊断上具有重要的意义, 但其对于发现早期 OvCa 的特异性不高, 需与多种良性卵巢肿瘤、其他系统肿瘤和炎症鉴别, 不利于临床诊疗^[3]。故临床上迫切需要寻找一种新的临床诊断生物标志物。

随着业内学者对 OvCa 分子机制的研究逐步拓展, 人们对癌症的发生机制有了进一步的认识。新近的证据表明, 非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)已经被鉴定为每种主要癌症类型中的癌基因或抑癌基因^[4]。ncRNA 领域内的 miRNA、lncRNA、circRNA 各自有着独特的作用。miRNA 相关的致癌基因和肿瘤抑制基因的失调在癌症发生中起到关键作用^[5]。lncRNAs 可利用多种作用模式来调节基因表达, 并广泛参与细胞过程^[6]。circRNA 可能会成为在

癌症发病机制中影响癌症的几个标志物^[7]。由于这些原因, ncRNA 已成为近来的癌症基础研究和临床医务工作者关注的热点。本文综述 OvCa 与 ncRNA 的最新研究现状, 分析 miRNA、lncRNA 和 circRNA 在 OvCa 中的相关过程, 如增殖、侵袭和转移, 并强调其功能作用, 以期寻找一种更为高效精准且简易快速的肿瘤靶向标志物检查方式, 优化当前 OvCa 的诊疗。

1 非编码 RNA 与肿瘤

在哺乳动物基因组中, 约 70% 以上的序列可以被转录, 而只有不到 2% 的序列可编码蛋白质, 那些不编码蛋白质的 RNA 序列, 称为非编码 RNA^[8]。细胞内存在数千种独特的 ncRNA 序列, 基于 RNA 的核苷酸(nt)大小, ncRNA 通常可分为片段长度是 18-200 nt 的小 ncRNA(short non-coding, sncRNA), 如 miRNA。小干扰 RNA(siRNA)和与 PIWI 蛋白相互作用的 RNA (PIWI-interacting RNA, piRNA), 超过 200 nt 的 lncRNA, 以及最新新研究的 circRNA^[9]。ncRNA 存在人体细胞各处, 参与细胞生理调节过程, 如细胞凋亡、增殖和转移发展, 从而成为广泛的生物活动和人类疾病的重要监管者。Dhahbi JM 等^[10]使用来自健康受试者和乳腺癌患者的血清进行深度 RNA 测序, 获得对应于各种类型的 sncRNA 的阅读长度分布, 并鉴定与乳腺恶性肿瘤相关的变异。Venkatesh T 等^[11]进一步总结了 ncRNA 在内分泌相关癌症中的功能及应用, 分析包括乳腺癌、卵巢癌、

基金项目: 广东省自然科学基金(编号: 2017A030313559)

作者简介: 揭嘉慧(1992.8-), 女, 广东廉江人, 硕士研究生, 主要从事环状 RNA 在上皮性卵巢癌中的研究

通讯作者: 张颖(1967.7-), 女, 辽宁沈阳人, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事妇科肿瘤方面的研究

前列腺癌、睾丸癌和子宫内膜癌,及可能成为潜在的癌症生物标志物。Braicu C 等^[12]认为癌症的发生和发展受复杂的多步骤过程控制,其中连续的突变可在多个蛋白质编码和非编码基因中积累,治疗抵抗仍然是目前癌症治疗的主要挑战。因此,ncRNA 联合治疗有可能作为癌症的未来治疗方案。

过去十年的工作改变了我们对 ncRNAs 从“垃圾”转录产物到介导细胞过程的功能调节分子的看法,包括染色质重塑、转录、转录后修饰和信号转导。ncRNA 参与的网络可以影响许多分子靶标,以驱动特定的细胞生物反应和通路。因此,更深入地了解 ncRNA 将为设计更好的肿瘤治疗方案提供难得的机会。

2 miRNA 与 OvCa

miRNA 是一类内源性非编码小的 RNA 分子,长度为 20~25 个核苷酸,可作为致癌基因或肿瘤抑制基因,因此在致癌过程中起着至关重要作用^[13, 14]。Bagnoli M 等^[15]通过分析上皮性卵巢癌样本的 miRNA 表达谱,开发一种 miRNA 风险评分模型,以预测上皮性卵巢癌的早期复发或进展。同时,Cramer DW 等^[16]总结了该模型预测的上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)预后相关 miRNA 特征,尽管存在局限性,但该研究显示了这一重要类别的 miRNA 在 OvCa 进展中的潜在作用,不仅可用于预测 OvCa 预后,还可用于预测通路。

在认识到此类 miRNA 可影响 OvCa 的发展后,学者们开始一系列从细胞功能通路到旁通路的研究。Mak CS 等^[17]的数据证明在增强失巢凋亡抗性方面的新信号轴 miR-141/KLF12/Sp1/survivin, miR-141 可能作为转移性 OvCa 的潜在治疗靶点。Barbier J 等^[18]通过构建裸鼠模型发现 NF90 过表达减少 OvCa 细胞的增殖并显著减少肿瘤大小和转移,而 miR-3173 的过表达以 NF90 和 DICER 依赖性的方式显著增加 OvCa 细胞转移。由此推测 miRNA 在机体的作用是复杂而多变,形成交互影响的作用通路。近年来血清中的循环 miRNA 也得到学者们的重视。Elias KM 等^[19]实验表明血清中循环 miRNA 有可能用于开发 OvCa 的非侵入性诊断检测。另外,最常用于高级别浆液性卵巢癌(High-grade serous ovarian cancer, HGSOC)临床治疗的方法是手术,其次是铂类和紫杉烷类化疗。手术结束时残留的肉眼可见的疾病程度是决定疾病无进展和总体生存的关键预后因素。寻求开发一种非侵入性检测方法,以帮助外科医生确定手术完全切除的可能性。Shah JS 等^[20]通过分析 HGSOC 患者和健康志愿者的血清 miRNA,同时测量相同样品中的血清 CA-125 水平,结合术前血清 miRNA 和 CA-125 作为 HGSOC 患者术后的

预后指标,再根据术后诊断对 HGSOC 进行进一步分类,Logistic 回归分析用于鉴定预测标志物,学者们鉴定出 miR-375 和 CA-125 的组合可作为健康者与 HGSOC 患者血清的最强鉴别因子。因此,结合循环 miRNA 的分子检测技术以预测 HGSOC 患者术中病灶切除的完整性,可能有助于规划最佳患者管理方案,最终改善患者预后。

3 lncRNA 与 OvCa

lncRNA 被定义为长度至少为 200 个 nt 的 RNA,它们是独立转录的,并且在分子上与 mRNAs 类似,但没有编码功能蛋白的潜力。近年跨物种全基因分析不断受到学者关注,它有助于理解 lncRNA 功能,并为验证 lncRNA 基因功能提供实际考虑^[21]。随着对 lncRNA 研究的逐步深入,人们发现某些 lncRNAs 在 OvCa 的各个分子水平存在明显有且特异性表达,影响 OvCa 细胞后续的功能水平。lncRNA 在 OvCa 的机制研究仍属于起步阶段。

大多数 OvCa 患者就诊时已出现腹腔转移,此时上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)在肿瘤细胞转移中起着关键作用。Mittra R 等^[22]对 4 个 OvCa 患者的>700 个 OvCa 分子谱的进行综合分析,其鉴定了 lncRNA DN30S、MEG3 和 MIAT 过度表达以及它们在 OvCa EMT 中的可再现基因调节,其中 DN30S 的过度表达,与患者整体较差存活率显著相关。基因干扰实验证明敲低 DN30S 可导致 EMT 连锁基因/途径改变,间充质至上皮细胞转变,以及细胞迁移和侵袭减少。进一步选择性蛋白质转录组学表征实验证实了 DN30S 和 OvCa EMT 的相关性。这说明, DN30S 可特异性地促使 OvCa 中 EMT 的形成。Liang H 等^[23]使用生信分析构建了一个 lncRNA 介导的间充质 OvCa 竞争性内源 RNA (ceRNA) 网络,并鉴定了 PTAR(pro-transition associated RNA)。在与数据集比对中发现间充质亚型样品中 PTAR 显著上调。通过样本检测发现,PTAR 表达与间充质 OvCa 样本中 ZEB1 的表达水平正相关。同时,过表达 miR-101 可调节 ZEB1,进而抑制 OvCa 细胞中的 EMT 和细胞迁移。进一步选择性证实了通过 miR-101 的调节,PTAR 的过表达可促进 OvCa 的 EMT 和转移,而干扰 PTAR 表达可出现 TGF- β 1 诱导的 OvCa 细胞致瘤性减弱。作者提出了 OvCa 的 PTAR-miR-101-ZEB1 轴,为预防 OvCa 转移提供了新策略。

lncRNA 只有约 200 nt,小片段的身份让 lncRNA 的其它功能受到质疑,近年有研究报道 lncRNA 可作为 OvCa 的生物标志物和在癌细胞进展中发挥作用。Teschendorff AE 等^[24]分析了 134 例原发性 OvCa 病例中的 HOTAIR 和相关的替代 DNA 甲基化

(DNAm)的表达(63例接受卡铂,55例接受顺铂,16例未接受化疗),并在5个多中心数据集的946个OvCa样本中验证,发现表达HOTAIR或其替代DNAm标记预测的所有卡铂治疗的OvCa患者预后不佳,而HOTAIR表达者使用顺铂更适合。因此,HOTAIR或其更稳定的DNAm替代物可能存在于一种赋予OvCa细胞卡铂抗性的能力,并可作为个性化治疗的标志物和克服卡铂抗性的新靶点。Chen Y等^[25]发现PVT1在OvCa细胞中表达升高与OvCa患者预后不良相关,敲低PVT1可减弱SKOV3细胞增殖、迁移和侵袭的能力,同时PVT1可通过EMT调节促进OvCa的发展,说明PVT1可作为卵巢癌的新型诊断标志物和治疗靶点。

一直以来学者们都积极寻找OvCa更丰富的影响机制,但是其具体的方向尚未不明确。近来有学者表示OvCa细胞对Kreb循环和氧化磷酸化的依赖性增加,并伴有一些相关的上调蛋白。SNHG3通过调节miRNA和EIF4A III与能量代谢相关,并且这些分子在糖酵解、Kreb循环和氧化磷酸化途径中具有PKM、PDHB、IDH2和UQCRLH的靶位点。这就说癌细胞主要依赖于糖酵解和氧化磷酸化来产生能量。此外,这种整合的lncRNA-miRNA-mRNA和lncRNA结合蛋白-mRNA特征可能对OvCa卵巢癌的分子机制和临床意义具有重要的价值^[26]。

4 circRNA 与 OvCa

随着circRNA研究成果不断呈现,其在OvCa方面的研究空白逐渐由学者们来开拓。有研究表明,无论卵巢细胞是病变的或是正常的,增殖较快的卵巢细胞的circRNA指数都低于前者,表明增殖是驱使circRNA丰度降低的因素;circRNA与增殖的指数呈负相关,提示这可能是人体组织内circRNA的一种基本表现模式^[27]。Ahmed I等^[28]指出需要改进不易发生肿瘤异质性的标志物和治疗靶点,以使卵巢癌患者获得更好的预后和治疗效果。

近年来学者们一直在积极寻找有差异的circRNA,但是关于circRNA在OvCa细胞的具体作用方式和机制的研究鲜见报端。最近Liu N等^[29]将卵巢上皮细胞系与邻近的正常组织相比,circHIPK3在EOC细胞和组织中表达更高。circHIPK3高表达与淋巴结转移、FIGO分期和较差的患者无病生存期和总生存期相关。此外,多变量Cox分析显示,circHIPK3高表达是EOC患者无病生存期和总生存期的独立预测因子。因此,circHIPK3可能是预测EOC预后的新型生物标志物。癌细胞中的circRNA可能成为一种新的诊断和治疗癌症的靶标。虽然目前还没有关于其用途的临床报告靶向治疗,但其低分子量的特性以及稳定性、保守性和它们在肿瘤细胞

活动中发挥的调节作用使得circRNA成为可能是一种治疗癌症的分子药物或靶点。

5 总结

过去十年出现的新类型ncRNA,如miRNA、lncRNA或circRNA,已被证明在肿瘤及其表达调节中发挥作用。但是目前的研究ncRNA在癌症中的作用仍处于起步阶段。随着应用高通量筛选技术,OvCa中更多失调的ncRNAs将会出现发现,其强大功能和独特性质将成为科学和临床研究的重点,揭示有关ncRNAs的信息将扩展我们对RNA复杂世界的理解。虽然目前ncRNA的临床价值正逐渐被人们所了解,但其对癌症的发生发展造成的影响尚未完全阐明,其调控的众多机制仍然未知,这意味着需要更多的证据来证明具体的ncRNA与癌症之间的相关性。现有研究发现的ncRNA大都不是通过共同的机制起作用,而是有着不同的分子作用机制。因此,ncRNA通用领域的研究进展将是揭示它们在癌症中潜在作用的关键。

迄今为止,OvCa在治疗应用的标志物选择上缺乏高度灵敏性和特异性的新方法,而ncRNA的功能特性及已报道的部分作用机制使其成为选择标志物方面的一众新星。当然,诸多研究难题仍尚待探索解答,ncRNA能否明确成为OvCa在预防、早期诊断及预后等的生物标志物,能否根据患者的遗传信息定制的个体化治疗策略以及能否作为肿瘤新型靶向治疗的有效靶标等,个性化的治疗将为医生和患者提供互利共赢的医疗结果。除了继续寻找与OvCa相关的ncRNA以外,还需探索ncRNA通过哪些通路相互调节OvCa的发生发展,以及ncRNA基因之间完整调控网络等。因此,有必要进一步研究ncRNAs,以提供新的途径用于OvCa生物标志物和治疗剂的开发。

当下miRNA和lncRNA的检测方法已不断充实完善,它们在OvCa中作用的研究成果日趋丰富且系统化,而在circRNA方面仍然缺乏简便、有效的检测circRNA的方法。通过RNA-Seq、微阵列等技术测序和生物信息学预测,已发现数以万计的circRNA。学者们已经建立了各种类型的circRNA数据,为肿瘤相关研究提供了便利的资源。现仍需不断补充并扩大现有的各类数据库,包括涉及不同物种、各种人体器官circRNA的分布以及不同作用通路的关系构建等,改善现有静态命名circRNA的方式,建立统一和动态的circRNA命名体系,综合性的分析可为进一步研究提便利。因此,ncRNA在OvCa的研究领域仍有广大的探索空间。

参考文献:

[1]Siegel RL,Miller KD,Jemal A.Cancer Statistics,2017 [J].CA

- Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] Jayson GC, Kohn EC, Kitchener HC, et al. Ovarian cancer [J]. Lancet, 2014, 384(9951): 1376-1388.
- [3] Sundar S, Neal RD, Kehoe S. Diagnosis of ovarian cancer [J]. BMJ, 2015(351): h4443.
- [4] Anastasiadou E, Jacob LS, Slack FJ. Non-coding RNA networks in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2018, 18(1): 5-18.
- [5] Dalmay T, Edwards DR. MicroRNAs and the hallmarks of cancer [J]. Onco gene, 2006, 25(46): 6170-6175.
- [6] Guttman M, Rinn JL. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs [J]. Nature, 2012, 482(7385): 339-346.
- [7] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. Nature, 2013, 495(7441): 333-338.
- [8] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease [J]. Nat Rev Genet, 2011, 12(12): 861-874.
- [9] St Laurent G, Wahlestedt C, Kapranov P. The Landscape of long noncoding RNA classification [J]. Trends Genet, 2015, 31(5): 239-251.
- [10] Dhahbi JM, Spindler SR, Atamna H, et al. Deep Sequencing of Serum Small RNAs Identifies Patterns of 5' tRNA Half and YRNA Fragment Expression Associated with Breast Cancer [J]. Biomark Cancer, 2014(6): 37-47.
- [11] Venkatesh T, Suresh PS, Tsutsumi R. Non-coding RNAs: Functions and applications in endocrine-related cancer [J]. Mol Cell Endocrinol, 2015(416): 88-96.
- [12] Braicu C, Catana C, Calin GA, et al. NCRNA combined therapy as future treatment option for cancer [J]. Curr Pharm Des, 2014, 20(42): 6565-6574.
- [13] Hayes J, Peruzzi PP, Lawler S. MicroRNAs in cancer: biomarkers, functions and therapy [J]. Trends Mol Med, 2014, 20(8): 460-469.
- [14] Chen Y, Fu LL, Wen X, et al. Oncogenic and tumor suppressive roles of microRNAs in apoptosis and autophagy [J]. Apoptosis, 2014, 19(8): 1177-1189.
- [15] Bagnoli M, Canevari S, Califano D, et al. Development and validation of a microRNA-based signature (MiROvaR) to predict early relapse or progression of epithelial ovarian cancer: a cohort study [J]. Lancet Oncol, 2016, 17(8): 1137-1146.
- [16] Cramer DW, Elias KM. A prognostically relevant miRNA signature for epithelial ovarian cancer [J]. Lancet Oncol, 2016, 17(8): 1032-1033.
- [17] Mak CS, Yung MM, Hui LM, et al. MicroRNA -141 enhances anoikis resistance in metastatic progression of ovarian cancer through targeting KLF12/Sp1/survivin axis [J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 11.
- [18] Barbier J, Chen X, Sanchez G, et al. An NF90/NF110-mediated feedback amplification loop regulates dicer expression and controls ovarian carcinoma progression [J]. Cell Res, 2018, 28(5): 556-571.
- [19] Elias KM, Fendler W, Stawiski K, et al. Diagnostic potential for a serum miRNA neural network for detection of ovarian cancer [J]. Elife, 2017(6): e28932.
- [20] Shah JS, Gard GB, Yang J, et al. Combining serum microRNA and CA-125 as prognostic indicators of preoperative surgical outcome in women with high-grade serous ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2018, 148(1): 181-188.
- [21] Ulitsky I. Evolution to the rescue: using comparative genomics to understand long non-coding RNAs [J]. Nat Rev Genet, 2016, 17(10): 601-614.
- [22] Mitra R, Chen X, Greenawalt EJ, et al. Decoding critical long non-coding RNA in ovarian cancer epithelial-to-mesenchymal transition [J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 1604.
- [23] Liang H, Yu T, Han Y, et al. LncRNA PTAR promotes EMT and invasion-metastasis in serous ovarian cancer by competitively binding miR-101-3p to regulate ZEB1 expression [J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 119.
- [24] Teschendorff AE, Lee SH, Jones A, et al. HOTAIR and its surrogate DNA methylation signature indicate carboplatin resistance in ovarian cancer [J]. Genome Med, 2015(7): 108.
- [25] Chen Y, Du H, Bao L, et al. LncRNA PVT1 promotes ovarian cancer progression by silencing miR-214 [J]. Cancer Biol Med, 2018, 15(3): 238-250.
- [26] Li N, Zhan X, Zhan X. The lncRNA SNHG3 regulates energy metabolism of ovarian cancer by an analysis of mitochondrial proteomes [J]. Gynecol Oncol, 2018, 150(2): 343-354.
- [27] Bachmayr-Heyda A, Reiner AT, Auer K, et al. Correlation of circular RNA abundance with proliferation-exemplified with colorectal and ovarian cancer, idiopathic lung fibrosis, and normal human tissues [J]. Sci Rep, 2015(5): 8057.
- [28] Ahmed I, Karedath T, Andrews SS, et al. Altered expression pattern of circular RNAs in primary and metastatic sites of epithelial ovarian carcinoma [J]. Oncotarget, 2016, 7(24): 36366-36381.
- [29] Liu N, Zhang J, Zhang LY, et al. CircHIPK3 is upregulated and predicts a poor prognosis in epithelial ovarian cancer [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(12): 3713-3718.

收稿日期: 2019-1-4; 修回日期: 2019-1-15

编辑/肖婷婷