



扫码阅读电子版

长链非编码 RNA H19 在肺癌中的研究进展

孟梦 陈建荣 陈金亮 张冬梅

南通大学第二附属医院呼吸科 226001

通信作者: 陈建荣, Email: drchenjr@163.com

【摘要】 肺癌是目前世界上发病率最高的恶性肿瘤。长链非编码 RNA (lncRNA) 是长度大于 200 个核苷酸、无蛋白质编码功能的 RNA 转录物。lncRNA H19 是最早发现的 lncRNA, 在肿瘤的增殖、侵袭、转移等过程中发挥重要调控功能。本文就 lncRNA H19 的生物学特性及其在肿瘤中的作用, 尤其在肺癌中的作用及分子机制进行综述。

【关键词】 肺肿瘤; 长链非编码 RNA H19; 微小 RNA; 基因调控

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.08.008

Research progress of long non-coding RNA H19 in lung cancer

Meng Meng, Chen Jianrong, Chen Jinliang, Zhang Dongmei

Department of Respiratory Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China

Corresponding author: Chen Jianrong, Email: drchenjr@163.com

【Abstract】 Lung cancer is currently the malignant tumor with the highest incidence in the world. Long non-coding RNA (lncRNA) is a RNA transcript with a length more than 200 nucleotides and no protein-coding potential. lncRNA H19, the first identified lncRNA, plays an important regulatory role in tumor proliferation, invasion, and metastasis. This review introduces the biological characteristics of lncRNA H19 and its role in tumors, especially its role and molecular mechanism in lung cancer.

【Key words】 Lung neoplasms; Long non-coding RNA H19; MicroRNA; Gene regulation

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.08.008

肺癌是目前世界上发病率最高的恶性肿瘤, 病死率也处于前列。最新统计数据显示, 在我国大中小城市中, 肺癌的发病率、病死率均居恶性肿瘤的第 1 位。肺癌的发生与吸烟和环境污染关系密切; 随着大气污染的加重, 我国应对肺癌的形式也越来越严峻。根据病理学分型, 肺癌分为非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 和小细胞肺癌两类, 其中 NSCLC 约占 85%。多数肺癌患者就诊时已属于中晚期, 总体 5 年生存率只有 15% 左右。因此, 亟需找寻一种有效的早期诊断及指导预后的标志物, 为肺癌的早期诊断和治疗提供帮助^[1]。近年来, 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 与肺癌关系的研究越来越广泛。lncRNA 一般指长度大于 200 个核苷酸, 位于细胞核内或胞浆, 不参与蛋白质编码功能的 RNA 分子^[2]。lncRNA 可与蛋白质和微小 RNA (microRNA, miRNA) 相互作用^[3], 参与调控细胞增殖、分化、凋亡、血管生成等生理过程, 也广泛参与多种癌症的发生与发展^[1]。研究显示, lncRNA H19 与肺癌密切相关, 在肺癌细胞的增殖、分化、迁移及侵袭中均发挥调节作用, 对肺

癌的诊断、预后及其耐药性评估具有重要的临床意义。

1 lncRNA H19 生物学特性

lncRNA H19 是最早发现的 lncRNA 之一。1984 年, Pachnis 等^[4]发现了一种 RNA 转录物, 它在胎鼠肝脏中高表达, 但在成年鼠肝脏中表达降低。他们筛选了胎儿肝脏 cDNA 文库, 寻找表达相对丰富的克隆片段, 发现只有 1 种克隆片段与胎鼠肝脏 cDNA 探针杂交, 但不与成年鼠肝脏 cDNA 探针和其他对照杂交, 被命名为 H19。

lncRNA H19 是由 H19 基因编码的 2.3 kb 的 RNA^[5]。H19 基因定位于人类染色体 11p15.5 的 H19/胰岛素样生长因子 2 (insulin-like growth factor-2, IGF2) 基因组印记簇上, 是一个高度保守的印记基因, 仅在母本等位基因中表达, 该印记基因座还含有 IGF2 基因, 两者共同由 H19 基因上游 4 kb 处的差异甲基化区调控。lncRNA H19 在胚胎发育和胎盘生长控制中发挥重要作用, 出生后 H19 基因的表达量降低, 仅有部分在心肌及骨骼肌中表达。H19 基因在 RNA 代谢、基因转录、表观遗传修饰、骨骼肌分化和肿瘤发生等多种生理、病理进程中发挥重要作用^[6]。

2 lncRNA H19 参与肿瘤分子机制

lncRNA H19 是与肿瘤关系最为密切、研究最为深入的 lncRNA 之一,其在肺癌^[7]、乳腺癌^[6]、骨肉瘤^[8]等多种恶性肿瘤中异常表达。lncRNA H19 在肿瘤中究竟是抑癌基因还是促癌基因仍存在较大争议:它最先被确定为肿瘤抑制因子;但随着研究的深入,越来越多的证据表明 lncRNA H19 在某些肿瘤中发挥了促癌基因作用^[9]。lncRNA H19 参与肿瘤的机制非常复杂,其促癌/抑癌活性一方面取决于肿瘤类型、发展阶段,更为重要的是,细胞内与 H19 相互作用的分子(包括 miRNA 及蛋白质)及其下游通路也发挥着决定性作用^[7]。

2.1 转录因子 p53 对 lncRNA H19 的调节 p53 为重要的抑癌基因,在多种肿瘤相关信号通路中处于中心地位^[10]。研究发现,在 lncRNA H19 基因启动子序列中存在 p53 蛋白结合位点, p53 可负向调节 H19 在肿瘤细胞中的表达。在低氧应激条件下,缺氧诱导因子 1 α 可促进 H19 基因转录,以增强细胞对不良环境的适应性,并参与肿瘤发生。研究发现,抑癌基因 p53 通过抑制缺氧诱导因子 1 α 活性进而抑制低氧诱导下的 H19 转录表达^[11]。

2.2 lncRNA H19 及其相关 miRNA lncRNA H19 可作为前体编码生成 miR-675,通过 lncRNA H19/miR-675 轴靶向下游促癌或抑癌分子,发挥生物学作用^[9,12]。例如,在乳腺癌中 H19 来源的 miR-675 可靶向抑制 E3 泛素连接酶 c-Cbl、Cbl-b,通过激活 Akt 及 ERK 通路促进乳腺癌细胞增殖及转移;此外,miR-675 可靶向抑制抑癌基因视网膜母细胞瘤蛋白,促进结直肠癌细胞及肝癌细胞的增殖^[13]。另外,各种恶性肿瘤可通过上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)获得侵袭和转移能力。Matouk 等^[12]研究发现 EMT 诱导剂(转化生长因子 β 等)可通过 PI3K-Akt 等通路上调 H19/miR-675 表达,从而增强下游 Slug 表达,抑制 E-钙黏蛋白表达,触发 EMT 过程,增强包括肺癌在内的多种肿瘤细胞侵袭性。

Liang 等^[14]证实了在结直肠癌细胞中 H19 可发挥“分子海绵”作用,抑制 miR-200a 和 miR-138 与其下游靶分子 mRNA 结合,促进结直肠癌细胞的 EMT。此外, H19 可与 let-7 结合,去除 let-7 对于下游分子 HMGA2 的靶向抑制,促进胰腺导管腺癌细胞的侵袭和迁移^[15]。

2.3 lncRNA H19 及其相关蛋白质 lncRNA H19 除了与 miRNA 结合发挥作用外,还可作用于其他的生物靶点,如 IGF2、多梳状阻遏复合体 2 蛋白等。研究发现 IGF2 可促进多种肿瘤细胞增殖,发挥抗凋亡作用^[16]。H19 和 IGF2 的表达受到共同的增强子激活,过量的 H19 诱导 IGF2 急剧下降,而 H19 缺失会导致 IGF2 过表达^[17]。Luo 等^[18]证实了在膀胱癌中 H19 可通过 EZH2 与多梳状阻遏复合体 2 相互作用,促进 EZH2 募集到 E-钙黏蛋白和 Nkd1 的启动子上,调节膀胱癌细胞的转移和侵袭。

3 lncRNA H19 与肺癌

3.1 lncRNA H19 与肺癌的临床相关性 肺癌是世界上发病率和病死率均较高的恶性肿瘤之一。已有多项研究表明

lncRNA H19 在肺癌组织和细胞系中表达均显著上调,并与肺癌患者预后不良呈正相关。Zhang 等^[19]采用实时荧光定量 PCR 技术研究发现 lncRNA H19 在肺癌组织中的表达显著高于癌旁组织,其表达水平与 NSCLC 肿瘤大小和分期呈正相关,且 H19 表达量越高,预后越差。Zhou 等^[20]检测了 200 例患者的肺癌组织与邻近的癌旁组织 H19 的表达情况,结果显示 H19 在肺癌组织的表达显著高于癌旁组织;体外细胞实验中,敲除 H19 基因可抑制肺癌细胞 A549 的增殖。上述研究提示, lncRNA H19 具有促进肺癌增殖的作用。但与此相反, Wang 等^[21]发现通过慢病毒介导的 RNA 干扰沉默 H19 的表达后, A549 的细胞迁移和侵袭均被明显抑制。因此, H19 的表达对肺癌细胞究竟是抑癌作用还是促癌作用仍存在争议。在肺癌的治疗方面, Wang 等^[22]研究发现 H19 的高表达与肺癌患者对顺铂治疗的反应性呈负相关,在顺铂耐药的 A549/DDP 细胞株中敲除 H19 可恢复细胞对顺铂的敏感性。

3.2 lncRNA H19 调控肺癌的分子机制

3.2.1 p53、c-Myc 调节 lncRNA H19 参与肺癌 目前有关 lncRNA H19 与肺癌的研究显示, p53 基因参与 lncRNA H19 对肺癌细胞增殖的调节。lncRNA H19 在肺癌组织中高表达, Matouk 等^[11]发现 lncRNA H19 的致癌活性在低氧条件下增强,在实体瘤中存在缺氧区,缺氧期间,突变的 p53 基因通过激活缺氧诱导因子 1 α 诱导增加 H19 的表达,从而促进肺癌细胞系的增殖与侵袭。原癌基因 c-Myc 可调控 lncRNA H19 的表达,参与肺癌的发生、发展。Zhang 等^[19]通过染色质免疫共沉淀实验证实,原癌基因 c-Myc 可直接结合于 lncRNA H19 基因启动子区,促进 H19 转录;敲低 lncRNA H19 表达可抑制肺癌细胞增殖。与此相一致, Cui 等^[23]利用荧光素酶报告基因法等证实了 c-Myc 对 H19 基因启动子的靶向调节作用,并发现 c-Myc 通过激活 lncRNA H19、下调 miR-107 从而促进肺癌细胞有丝分裂。

3.2.2 lncRNA H19 调控 miRNA 参与肺癌 在肺癌中, H19 可通过直接靶向调节 miR-675 而发挥作用。He 等^[24]发现 miR-675-5p 在 NSCLC 患者肺癌组织中的表达水平显著低于癌旁组织,且与肿瘤的淋巴转移及 TNM 分期相关。G 蛋白偶联受体 GPR55 具有脂质感应性,其上调可加强多种肿瘤细胞的侵袭转移。He 等^[24]证实 GPR55 是 miR-675 的直接靶分子,抑制 miR-675-5p 可导致 GPR55 信号传导途径的激活,从而促进肺癌细胞的增殖和侵袭。

H19 还可靶向调节多种 miRNA 参与肺癌发生、发展。Zhang 等^[25]研究发现,在 A549 肺癌细胞中 lncRNA H19 可与 miR-484 直接结合,去除 miR-484 对于 ROCK2 的靶向抑制作用,通过激活 ROCK2/JNK 通路,促进肺癌细胞的迁移、侵袭、EMT 的发生。通过生物信息学分析及荧光素酶法验证, Huang 等^[26]发现 H19 可靶向结合 miR-17,在肺癌细胞系中 lncRNA H19 高表达而 miR-17 低表达, H19 去除 miR-17 对 STAT3 的靶向抑制,促进 NSCLC 细胞的增殖、迁移与侵袭。Cui 等^[23]发现 lncRNA H19 可靶

向结合抑制 miR-107, 在肺癌细胞中通过 c-Myc/lncRNA H19/miR-107 轴促进细胞周期的进展, 增强 NSCLC 细胞的增殖和转移。

3.2.3 lncRNA H19-IGF2 基因印记缺失 (loss of imprinting, LOI) 与肺癌 来源于不同亲代的体细胞中的一对等位基因的差异性表达被称为基因印记, 即有些基因呈亲源依赖性的单等位基因表达, 另一等位基因不表达或表达极弱。基因组印记缺失则可导致双等位基因表达, 表达量成倍增加^[17]。H19-IGF2 基因座的 LOI 常见于多种癌症^[17]。1995年, Kondo 等^[27]研究表明, H19 的 LOI 在肺癌的发展中频繁发生, 并且与启动子区域的低甲基化相关, 同时还揭示 H19 的过度表达常常与保留 2 个亲本等位基因的 H19 的 LOI 相关。但 Kaplan 等^[28]的研究发现在吸烟者的气道上皮中存在 lncRNA H19 的过表达, 但并不依赖于 LOI, 作者推测吸烟最初会导致 lncRNA H19 单等位基因的表达上调, 随着吸烟负担的增加最终进展至 LOI, H19 的表达水平和最终 LOI 的评估可能是气道上皮向恶性转化进展的早期标志, 有望用于肺癌的早期筛查和风险分层。

4 展望

综上所述, lncRNA H19 在肺癌中异常表达, 并与肺癌的 TNM 分期、转移呈正相关, 对判断肺癌的预后具有一定的临床意义, 同时 lncRNA H19 的表达降低了肺癌细胞对于顺铂化疗药物的敏感性, 这对肺癌的未来治疗提供更广泛的视角; lncRNA H19 的主要研究结果及其在肺癌中的重要发现以时间轴方式总结如下 (图 1)。虽然在肺癌中尚未发现直接与 lncRNA H19 相互结合的蛋白分子, 但既往在其他肿瘤中的研究结果可为我们提供有价值的线索。

lncRNAH19 在肺癌中作用仍有很多未知, 同时也需要更大样本量的研究来验证 H19 是否可作为肺癌早期诊断的标志物。对于 lncRNA H19 的研究将有助于我们更好地阐明肺癌发生、发展的分子机制, 并为肺癌的临床诊断与治疗带来新的靶点, 为肺癌患者带来新的曙光。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Osielska MA, Jagodziński PP. Long non-coding RNA as potential biomarkers in non-small-cell lung cancer: What do we know so far? [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 101: 322-333. DOI:10.1016/j.biopha.2018.02.099.
- [2] Peng Z, Liu C, Wu M. New insights into long noncoding RNAs and their roles in glioma[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 61. DOI:10.1186/s12943-018-0812-2.
- [3] Rathinasamy B, Velmurugan BK. Role of lncRNAs in the cancer development and progression and their regulation by various phytochemicals[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 102: 242-248. DOI:10.1016/j.biopha.2018.03.077.
- [4] Pachnis V, Belayew A, Tilghman SM. Locus unlinked to alpha-fetoprotein under the control of the murine raf and Rif genes[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1984, 81(17): 5523-5527.
- [5] Pope C, Mishra S, Russell J, et al. Targeting H19, an imprinted long non-coding RNA, in hepatic functions and liver diseases[J]. Diseases, 2017, 5(1). pii: E11. DOI: 10.3390/diseases5010011.
- [6] Collette J, Le Bourhis X, Adriaenssens E. Regulation of human breast cancer by the long non-coding RNA H19[J].



图 1 时间轴: H19 基因的主要发现及在非小细胞肺癌中的作用

- Int J Mol Sci, 2017, 18 (11). pii: E2319. DOI: 10. 3390/ijms18112319.
- [7] Matouk IJ, Halle D, Gilon M, et al. The non-coding RNAs of the H19-IGF2 imprinted loci: a focus on biological roles and therapeutic potential in Lung Cancer[J]. J Transl Med, 2015, 13:113. DOI:10.1186/s12967-015-0467-3.
- [8] Zhao J, Ma ST. Downregulation of lncRNA H19 inhibits migration and invasion of human osteosarcoma through the NF- κ B pathway[J]. Mol Med Rep, 2018, 17 (5): 7388-7394. DOI:10.3892/mmr.2018.8746.
- [9] Raveh E, Matouk IJ, Gilon M, et al. The H19 Long non-coding RNA in cancer initiation, progression and metastasis-a proposed unifying theory[J]. Mol Cancer, 2015, 14:184. DOI: 10.1186/s12943-015-0458-2.
- [10] Muller PA, Vousden KH. Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities [J]. Cancer Cell, 2014, 25(3):304-317. DOI:10.1016/j.ccr.2014.01.021.
- [11] Matouk IJ, Mezan S, Mizrahi A, et al. The oncofetal H19 RNA connection: hypoxia, p53 and cancer [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1803 (4): 443-451. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2010.01.010.
- [12] Matouk IJ, Halle D, Raveh E, et al. The role of the oncofetal H19 lncRNA in tumor metastasis: orchestrating the EMT-MET decision[J]. Oncotarget, 2016, 7 (4): 3748-3765. DOI: 10.18632/oncotarget.6387.
- [13] Tsang WP, Ng EK, Ng SS, et al. Oncofetal H19-derived miR-675 regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer[J]. Carcinogenesis, 2010, 31 (3): 350-358. DOI: 10.1093/carcin/bgp181.
- [14] Liang WC, Fu WM, Wong CW, et al. The lncRNA H19 promotes epithelial to mesenchymal transition by functioning as miRNA sponges in colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(26):22513-22525. DOI:10.18632/oncotarget.4154.
- [15] Ma C, Nong K, Zhu H, et al. H19 promotes pancreatic cancer metastasis by derepressing let-7's suppression on its target HMGA2-mediated EMT [J]. Tumour Biol, 2014, 35 (9): 9163-9169. DOI:10.1007/s13277-014-2185-5.
- [16] Liu J, Jia Y, Jia L, et al. MicroRNA-615-3p inhibits the tumor growth and metastasis of NSCLC via inhibiting IGF2 [J]. Oncol Res, 2018, In press. DOI: 10.3727/096504018X15215019227688.
- [17] Park KS, Mitra A, Rahat B, et al. Loss of imprinting mutations define both distinct and overlapping roles for misexpression of IGF2 and of H19 lncRNA[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(22):12766-12779. DOI:10.1093/nar/gkx896.
- [18] Luo M, Li Z, Wang W, et al. Long non-coding RNA H19 increases bladder cancer metastasis by associating with EZH2 and inhibiting E-cadherin expression[J]. Cancer Lett, 2013, 333(2):213-221. DOI:10.1016/j.canlet.2013.01.033.
- [19] Zhang E, Li W, Yin D, et al. c-Myc-regulated long non-coding RNA H19 indicates a poor prognosis and affects cell proliferation in non-small-cell lung cancer[J]. Tumour Biol, 2016, 37(3):4007-4015. DOI:10.1007/s13277-015-4347-5.
- [20] Zhou Y, Sheng B, Xia Q, et al. Association of long non-coding RNA H19 and microRNA-21 expression with the biological features and prognosis of non-small cell lung cancer [J]. Cancer Gene Ther, 2017, 24(8):317-324. DOI: 10.1038/cgt.2017.20.
- [21] Wang L, Sun Y, Yi J, et al. Targeting H19 by lentivirus-mediated RNA interference increases A549 cell migration and invasion[J]. Exp Lung Res, 2016, 42(7):346-353. DOI: 10.1080/01902148.2016.1223229.
- [22] Wang Q, Cheng N, Li X, et al. Correlation of long non-coding RNA H19 expression with cisplatin-resistance and clinical outcome in lung adenocarcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(2):2558-2567. DOI:10.18632/oncotarget.13708.
- [23] Cui J, Mo J, Luo M, et al. c-Myc-activated long non-coding RNA H19 downregulates miR-107 and promotes cell cycle progression of non-small cell lung cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10):12400-12409.
- [24] He D, Wang J, Zhang C, et al. Down-regulation of miR-675-5p contributes to tumor progression and development by targeting pro-tumorigenic GPR55 in non-small cell lung cancer[J]. Mol Cancer, 2015, 14:73. DOI: 10.1186/s12943-015-0342-0.
- [25] Zhang Q, Li X, Li X, et al. LncRNA H19 promotes epithelial-mesenchymal transition (EMT) by targeting miR-484 in human lung cancer cells [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(6):4447-4457. DOI:10.1002/jcb.26537.
- [26] Huang Z, Lei W, Hu HB, et al. H19 promotes non-small-cell lung cancer (NSCLC) development through STAT3 signaling via sponging miR-17[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(10):6768-6776. DOI:10.1002/jcp.26530.
- [27] Kondo M, Suzuki H, Ueda R, et al. Frequent loss of imprinting of the H19 gene is often associated with its overexpression in human lung cancers[J]. Oncogene, 1995, 10(6):1193-1198.
- [28] Kaplan R, Luettich K, Heguy A, et al. Monoallelic up-regulation of the imprinted H19 gene in airway epithelium of phenotypically normal cigarette smokers [J]. Cancer Res, 2003, 63(7):1475-1482.

(收稿日期:2018-06-13)