

长链非编码 RNA HOTAIR 在乳腺癌中作用的研究进展

邓玉洁(综述), 庞伟毅(审校)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号:81560526); 广西高校科学技术研究项目(编号:2013ZD044)

作者单位: 541000 广西, 桂林医学院

作者简介: 邓玉洁(1990-), 女, 在读研究生, 研究方向: 肿瘤的预防与控制。E-mail: 357546903@qq.com

通讯作者: 庞伟毅(1980-), 男, 博士, 硕士研究生导师, 副教授, 研究方向: 环境与肿瘤。E-mail: p. weiyi@live.cn

[摘要] 乳腺癌已成为女性常见的恶性肿瘤, 有着较高的病死率。长链非编码 RNA(Lnc RNAs)HOX 转录反义 RNA(HOTAIR)与多种人类肿瘤的发生、发展、转移和预后等密切相关。该文就 Lnc RNA HOTAIR 在乳腺癌中作用的研究进展作一综述。

[关键词] 长链非编码 RNA; HOTAIR; 乳腺癌

[中图分类号] R 737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2017)05-0484-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2017.05.27

Research progress of long noncoding RNA HOTAIR in breast cancer DENG Yu-jie, PANG Wei-yi. Guilin Medical University, Guangxi 541000, China

[Abstract] Breast cancer is a common malignant tumor with high mortality. Long noncoding RNA HOX transcript antisense RNA(Lnc RNA HOTAIR) is relevant to the oncogenesis, progression, metastasis and prognosis of various human cancers. In this paper, we review the research progress of Lnc RNA HOTAIR in breast cancer.

[Key words] Long noncoding RNA(Lnc RNAs); HOX transcript antisense RNA(HOTAIR); Breast cancer

长链非编码 RNA(Long noncoding RNA, Lnc RNAs)的发现对分子生物学的研究进展至关重要, 已有研究证明 Lnc RNAs 与剂量补偿、基因印记、细胞分化和器官形成等基本生物学事件的发生发展密切相关^[1]。HOX 转录反义 RNA(HOX, transcript antisense RNA, HOTAIR)是目前研究较多的 Lnc RNAs 其中的一种, 它的失调与人类癌症的发生发展、转移和预后等密切相关, 如乳腺癌^[2]。乳腺癌已成为女性的主要恶性肿瘤之一, 其发病率居女性肿瘤的首位, 病死率居第二位, 仅次于肺癌^[3]。有研究显示 Lnc RNAs 在乳腺癌的发生发展过程中扮演着至关重要的角色, 而 HOTAIR 与乳腺癌关系密切^[2,4,5]。本文就 HOTAIR 参与乳腺癌发生发展、转移和预后的可能机制, 以及其有望成为乳腺癌治疗和预后的生物靶点等方面的研究进展作一综述。

1 Lnc RNAs 概述

Lnc RNAs, 长度为 200~1 000 个核苷酸, 它不

编码蛋白质, 但在不同水平上调控基因的表达, 包括染色质修饰、转录和转录后加工, 尤其在染色质的表观遗传调控方面表现突出^[6,7]。在哺乳动物的发育和分化过程中, Lnc RNAs 对基因表达起着关键的调控作用^[1]。根据 Lnc RNAs 相对于蛋白编码基因的位置分为 5 类, 即正义、反义、双向、内含子和基因间^[8]。Lnc RNAs 主要的生物学作用: (1) 充当信号分子, 具有生物标记特点; (2) 与 DNA 或蛋白质结合, 将特定复合物招募到染色体特定位置; (3) 作为蛋白质复合物“骨架”介导染色质修饰酶共同调控基因表达; (4) 调节选择性剪接序列; (5) 通过抑制 RNA 聚合酶 II 的活性或诱导染色体重排干扰下游基因的表达; (6) 是部分小 RNA(如 siRNA 和 miRNA)的前体分子; (7) 作为内源竞争性 RNA, 可特异性结合 miRNA, 发挥内源性“miRNA 海绵”作用, 影响其调控靶基因^[9,10]。越来越多的研究显示, Lnc RNAs 在疾病的发生发展中及恶性肿瘤的侵袭和转移中发

挥着重要的调控作用^[11~15]。

2 HOX 转录反义 RNA (HOTAIR) 概述

HOTAIR 长 2.2 kb, 定位在 12 号染色体 HOXC 基因上受其转录, 主要调控 HOXD 基因, 却不编码任何蛋白质, 由 Rinn 等^[16]首次在人成纤维细胞的 HOX 基因中发现, 编码它的 DNA 序列 (包括 5 个短外显子和 1 个长外显子) 和 HOX 基因序列并不在同一条 DNA 链上, 主要通过反式转录沉默基因。He 等^[17]研究了 3 种非哺乳脊椎动物和 10 种哺乳动物的 HOTAIR 基因序列, 发现在非哺乳脊椎动物的基因组中普遍存在单个 HOTAIR 基因外显子, 而在哺乳动物的基因组中, 仅 HOXC11 和 HOXC12 基因之间同时存在 6 个 HOTAIR 基因的外显子; 此外还发现哺乳动物 HOTAIR 基因序列的进化过程明显快于邻近 HOXC 基因, 提示同源 HOTAIR 基因外显子表现出不一样的进化动力学过程; 进一步研究发现 HOTAIR 基因外显子 1 的 5' 端和外显子 6 结构域 B 的 3' 端相对保守, 可与多梳蛋白结合发挥生物学功能, 反应生物的进化过程。Schorderet 等^[18]发现同源小鼠和人类的 HOTAIR 基因仅有 58% 的序列具有相似性, 结构和功能存在明显差异。小鼠中 HOXC 基因簇中 HOTAIR 的缺失不影响 HOXD10 基因的表达, 而人类中 HOTAIR 基因的缺失可显著影响 HOXD 基因的表达, 提示不同物种间 HOTAIR 基因序列有较大差异且保守性差。

3 HOTAIR 的作用机制

HOTAIR 在充当脚手架同时将多梳复合抑制物 2 (PRC2) 和组蛋白去甲基化酶复合物 (LSD1/REST/CoREST) 结合到特定基因位点, 使组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸三甲基化 (H3K27me3) 和组蛋白 H3 第 4 位赖氨酸二甲基化 (H3K4me2) 在发育过程的分化途径中, 以反式作用抑制许多基因的转录沉默基因, 从而增加癌症的发生发展、转移可能性和侵袭性^[2,19]。Tsai 等^[19]研究发现在包皮成纤维细胞中, PRC2 能与 HOTAIR 5' 端功能域结合, 而 LSD1/REST/CoREST 能与 HOTAIR 3' 端功能域结合。在随后进行的 HOTAIR 基因敲除实验中, 发现 HOXD 基因簇和 H3K4me2 的表达上调, 而 H3K27me3、PRC2 和 LSD1 的表达下调, 其中 HOXD 基因簇的表达上调相对明显。进一步研究发现, 当 HOTAIR 同时结合这 2 个复合物时, 可靶向介导至富含 GC 的基因位点上。这些都充分提示 HOTAIR 与 PRC2 和 LSD1 关系密切, HOTAIR 可同时结合 PRC2 和 LSD1/REST/CoREST 使基因沉默。

4 HOTAIR 与乳腺癌的关系

Gupta 等^[2]对转移性乳腺癌中 HOTAIR 的表达情况进行了系统研究。通过比较原发性乳腺癌、转移性乳腺癌和正常乳腺组织的临床标本中 HOTAIR 基因的表达情况, 发现 HOTAIR 在原发性和转移性乳腺癌的临床标本中表达均显著提高, 且转移性乳腺癌的临床标本中 HOTAIR 普遍高表达。体外实验显示, HOTAIR 在 4 种不同的乳腺癌细胞系 (MCF-10A, MCF-7, SK-BR3, MDA-MB-231) 中表达上调可增强瘤株的生长力与侵袭性, 而 HOTAIR 表达下调能抑制肿瘤细胞的侵袭性。体内实验显示, 静脉注射高表达 HOTAIR 的 MDA-MB-231 细胞, 肿瘤原发灶生长迅速, 并促进裸鼠肿瘤肺转移的形成及发生。在转移性乳腺癌中, HOTAIR 表达上调使 PRC2 重定位沉默抑癌基因, 如细胞黏附分子原钙黏素 (PCDH) 和连接黏附分子 2 (JAM2) 等, 它们的异常表达可导致细胞黏附、血管形成等受影响, 从而增加癌细胞的转移侵袭性, 提示 HOTAIR 与 PRC2 之间的相互作用可影响肿瘤的侵袭性。此外, HOTAIR 的下调可导致 H3K27 甲基化, 逆转上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 进程, 降低乳腺癌细胞的侵袭性, 而 HOTAIR 或 PRC2 组件的缺失可抑制肿瘤侵袭转移。这些研究表明 HOTAIR 能促进乳腺癌细胞的生长和转移。Gupta 等^[2]的临床回顾性研究表明, HOTAIR 高表达乳腺癌患者比低表达患者的无转移生存率和总体生存率均显著降低, 提示 HOTAIR 的高表达是预测肿瘤转移和患者死亡的危险因素之一。Sørensen 等^[20]研究发现, HOTAIR 在有发生转移的乳腺癌患者组织中表达有差异, 且在原发乳腺癌患者中高表达, 提示预后不良。Chisholm 等^[21]研究发现, HOTAIR 和 EZH2 (Enhancer of Zeste homolog 2, PRC2 亚组中的一个重要催化亚基) 具有显著相关性, 相对于原发性乳腺癌患者, 两者在转移性乳腺癌患者中的表达水平显著增高, 且两者同时表达与患者的预后不良紧密相关。这些研究充分表明乳腺癌患者 HOTAIR 高表达提示高转移风险及不良预后, HOTAIR 的表达水平能有效预测肿瘤转移及评估预后并弥补现有预测指标的不足, 丰富乳腺癌的诊断指标。

5 治疗与前景

根据临床-病理特点, 乳腺癌分为以下 5 类分子亚型: (1) luminal A, 即雌激素受体阳性 (ER+) 和/或孕激素受体阳性 (PR+), 而人类表皮生长因子受体-2 阴性 (HER2 阴性); (2) luminal B, 即 ER+ 和/

或 PR + , 且 HER2 阳性; (3) HER2 阳性, 即 ER 和 PR 均为阴性, 而 HER2 阳性; (4) 基底样型, 与三阴性乳腺癌 (TNBC) 有近 75% 重合而被逐渐取代, 即 ER、PR 和 HER2 均为阴性表达; (5) 正常乳腺样肿瘤^[22,23]。ER 和 PR 均为激素受体, 参与乳腺癌的发生和发展; 而 HER2 在乳腺癌的恶性转化及临床侵袭性上发挥着重要的作用; TNBC 是侵袭性乳腺癌, 具有难治性特点^[22,24]。雌二醇 (Estradiol, E2) 是乳腺组织中雌激素的主要活性形式, 可结合 ER, 随后转录激活 E2 应答基因, 导致细胞增殖和基因组的不稳定性, 最终导致乳腺癌的发生^[25,26]。有研究显示, 在 HER2 富集的乳腺癌亚组中, HOTAIR 显著高表达^[27]。目前已有应用作用于激素受体和 HER2 阳性靶基因的药物方案来治疗乳腺癌, 如他莫昔芬和曲妥珠单抗等^[24]。此外, 几项关于 TNBC 的治疗方案正在研究, 如雄激素受体、表皮生长因子受体 (EGFR)、血管内皮生长因子 (VEGF) 和聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶 (PARP)^[24,28]。也许我们可以通过 HOTAIR 相关的 ER 通路、HER2 和 VEGF 等靶基因方面设计新药物。有研究表明, 表达下调的 HOTAIR 与 PRC2 或 LSD1 复合物相互作用能抑制乳腺癌细胞转移^[29]。由于 HOTAIR 与 PRC2 相互依存, 一个新的治疗方案也许能应用于多梳蛋白高表达的肿瘤中, 如针对内源性 HOTAIR 的靶基因药物或 HOTAIR-PRC2 相互作用通路的抑制剂药物。Kaneko 等^[30]发现由于 EZH2 蛋白的改性, 苏氨酸 345 (T345) 残基磷酸化的突变能加强 HOTAIR 结合 EZH2。EZH2 以细胞-周期-依赖的方式通过细胞周期蛋白依赖性激酶 1 (CDK1) 使 T345 残基和苏氨酸 487 (T487) 残基磷酸化。这表明, EZH2 通过 CDK1 或 CDK2 的方式进行磷酸化可能提高 HOTAIR 在细胞周期 S 和 G2 期的结合能力。也许我们可以通过 HOTAIR-EZH2 相互作用的通路, 从中设计新方案治疗乳腺癌。Lnc RNAs 与其他非编码 RNA (noncoding RNA, nc RNA) 相互作用以调节 nc RNA 的调控活性, 如 siRNA, miRNAs^[31]。siRNA 可干扰 HOTAIR 基因的表达, 在乳腺癌细胞中, siRNA 可抑制 HOTAIR 表达, 导致 EMT 和细胞增殖受抑制, 使细胞发生凋亡。Lnc RNAs 可充当“miRNA 海绵”, 干扰肿瘤抑制子 miRNAs, 导致肿瘤的发生。最近一项研究表明, 相当多的 miRNAs 成为乳腺癌治疗的潜在靶点, 如 miR-140、miR-221/222 和 miR-125。已有一些以 miRNAs 为基础的治疗方案, 如使用反义寡核苷酸抑制致癌 miRNAs、使用类 miRNAs 特性的药物

恢复肿瘤抑制基因和应用 miRNAs 的化学改性等^[24]。另外, 还可考虑乳腺癌中 HOTAIR 相关信号途径, 如信号分子 miR-10b^[32]。另有研究发现, miR-148a 与乳腺癌患者的 HOTAIR 呈负相关^[33]。乳腺癌干细胞 miR-7 的下调可能与 HOTAIR 有间接关系, 因为 HOTAIR 调控表达的 HOXD10 基因可促进 miR-7 的表达^[34]。参考这些研究结果或许可以利用微小 RNA 的高表达作为治疗乳腺癌的参考方案。有研究发现 HOTAIR 表达与 DNA 甲基化呈正相关, 这与不良疾病的特征相关, 提示基因间的 DNA 甲基化在调控 HOTAIR 表达中发挥了关键作用^[35]。Wang 等^[36]研究发现, PRC2 在维持干细胞多能性、通过促进 H3K27me3 抑制细胞分化和分化调控基因的转录抑制等方面有着重要的作用。在小鼠胚胎干细胞和人乳腺癌细胞中, 肿瘤抑制蛋白 BRCA1 与 EZH2 和 PRC2 其他亚基相互作用, BRCA1 的表达可抑制 EZH2 结合到 HOTAIR, 而 BRCA1 的表达下降可使 EZH2 重定向, 且在 PRC2 靶点上提高 H3K27me3 水平。此外, BRCA1 缺陷以依赖 EZH2 的方式阻遏胚胎干细胞的分化及增强乳腺癌的转移和侵袭性。这些结果表明, BRCA1 是 PRC2 的关键负性调节因子, 其缺失可通过增强 PRC2 功能抑制胚胎干细胞的分化及增强肿瘤侵袭性表型。也许我们可以从 DNA 甲基化、BRCA1 等相关方面研究治疗方案。总的来说, 研究以 HOTAIR 为基础的不同治疗方案在理论上是可行的。

6 展望

许多 Lnc RNAs 参与癌症患者肿瘤进展过程, 其差异表达可导致正常和肿瘤上皮细胞的差异, 且与乳腺癌紧密相关。HOTAIR 在癌症的进展中发挥重要作用, 在乳腺癌患者细胞中检测到 HOTAIR 高表达, 可进行预测转移和评估预后。HOTAIR 的靶向治疗是肿瘤研究领域的创新, 理论上, 可应用小分子抑制剂、模拟特异性 siRNAs 或冗余的 miRNAs 以阻断分子间的相互作用、破坏 HOTAIR 的二级结构或沉默 HOTAIR 基因。综上所述, HOTAIR 有望作为乳腺癌转移和预后的特异性肿瘤标志物, 并针对这一靶点研发新药物治疗乳腺癌或其他特定类型肿瘤。关于 HOTAIR 信号通路和相关分子机制尚待进一步研究, 本文关于探讨以 HOTAIR 为基础治疗乳腺癌的相关机制尚有欠缺, 还需进一步研究以明确更为优势的癌症相关治疗方案。

参考文献

- 1 Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differ-

- entiation and development[J]. *Nat Rev Genet*, 2014, 15(1):7-21.
- 2 Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis[J]. *Nature*, 2010, 464(7291):1071-1076.
- 3 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. *Ca Cancer J Clin*, 2016, 66(1):7-30.
- 4 Hansji H, Leung EY, Baguley BC, et al. Keeping abreast with long non-coding RNAs in mammary gland development and breast cancer[J]. *Front Genet*, 2014, 5:379.
- 5 Reiche K, Kasack K, Schreiber S, et al. Long non-coding RNAs differentially expressed between normal versus primary breast tumor tissues disclose converse changes to breast cancer-related protein-coding genes[J]. *PloS One*, 2014, 9(9):e106076.
- 6 Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3):155-159.
- 7 Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world[J]. *Genes Dev*, 2009, 23(13):1494-1504.
- 8 Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2009, 136(4):629-641.
- 9 Vikram R, Ramachandran R, Abdul KS. Functional significance of long non-coding RNAs in breast cancer[J]. *Breast Cancer*, 2014, 21(5):515-521.
- 10 Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, et al. A long noncoding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA[J]. *Cell*, 2011, 147(2):358-369.
- 11 Lee NK, Lee JH, Park CH, et al. Long non-coding RNA HOTAIR promotes carcinogenesis and invasion of gastric adenocarcinoma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 451(2):171-178.
- 12 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, et al. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(20):6320-6326.
- 13 Nakagawa T, Endo H, Yokoyama M, et al. Large noncoding RNA HOTAIR enhances aggressive biological behavior and is associated with short disease-free survival in human non-small cell lung cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 436(2):319-324.
- 14 Fu X, Ravindranath L, Tran N, et al. Regulation of apoptosis by a prostate-specific and prostate cancer-associated noncoding gene, PC-GEM1[J]. *DNA Cell Biol*, 2006, 25(3):135-141.
- 15 Lottin S, Adriaenssens E, Dupressoir T, et al. Overexpression of an ectopic H19 gene enhances the tumorigenic properties of breast cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23(11):1885-1895.
- 16 Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2007, 129(7):1311-1323.
- 17 He S, Liu S, Zhu H. The sequence, structure and evolutionary features of HOTAIR in mammals[J]. *BMC Evol Biol*, 2011, 11:102.
- 18 Schorderet P, Duboule D. Structural and functional differences in the long non-coding RNA hotair in mouse and human[J]. *PloS Genet*, 2011, 7(5):e1002071.
- 19 Tsai MC, Manor O, Wan Y, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes[J]. *Science*, 2010, 329(5992):689-693.
- 20 Sørensen KP, Thomassen M, Tan Q, et al. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker of metastasis in estrogen receptor-positive primary breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 142(3):529-536.
- 21 Chisholm KM, Wan Y, Li R, et al. Detection of long non-coding RNA in archival tissue: correlation with polycomb protein expression in primary and metastatic breast carcinoma[J]. *PloS One*, 2012, 7(10):e47998.
- 22 Boyle P. Triple-negative breast cancer: epidemiological considerations and recommendations[J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(Suppl 6):vi7-vi12.
- 23 Choi J, Jung WH, Koo JS. Clinicopathologic features of molecular subtypes of triple negative breast cancer based on immunohistochemical markers[J]. *Histol Histopathol*, 2012, 27(11):1481-1493.
- 24 Nagini S. Breast Cancer: Current Molecular Therapeutic Targets and New Players[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2017, 17(2):152-163.
- 25 Bai Z, Gust R. Breast cancer, estrogen receptor and ligands[J]. *Arch Pharm(Weinheim)*, 2009, 342(3):133-149.
- 26 Yager JD, Davidson NE. Estrogen carcinogenesis in breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(354):270-282.
- 27 Su X, Malouf GG, Chen Y, et al. Comprehensive analysis of long non-coding RNAs in human breast cancer clinical subtypes[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(20):9864-9876.
- 28 Tomao F, Papa A, Zaccarelli E, et al. Triple-negative breast cancer: new perspectives for targeted therapies[J]. *Onco Targets Ther*, 2015, 8:177-193.
- 29 Tsai MC, Spitale RC, Chang HY. Long intergenic noncoding RNAs: new links in cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(1):3-7.
- 30 Kaneko S, Li G, Son J, et al. Phosphorylation of the PRC2 component Ezh2 is cell cycle-regulated and up-regulates its binding to ncRNA[J]. *Genes Dev*, 2010, 24(23):2615-2620.
- 31 Jalali S, Bhartiya D, Lalwani MK, et al. Systematic transcriptome wide analysis of lncRNA-miRNA interactions[J]. *PloS One*, 2013, 8(2):e53823.
- 32 Yao Y, Li J, Wang L. Large intervening non-coding RNA HOTAIR is an indicator of poor prognosis and a therapeutic target in human cancers[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(10):18985-18999.
- 33 Tao S, He H, Chen Q. Estradiol induces HOTAIR levels via GPER-mediated miR-148a inhibition in breast cancer[J]. *J Transl Med*, 2015, 13:131.
- 34 Zhang H, Cai K, Wang J, et al. MiR-7, Inhibited Indirectly by lincRNA HOTAIR, Directly Inhibits SETDB1 and Reverses the EMT of Breast Cancer Stem Cells by Downregulating the STAT3 Pathway[J]. *Stem Cells*, 2014, 32(11):2858-2868.
- 35 Lu L, Zhu G, Zhang C, et al. Association of large noncoding RNA HOTAIR expression and its downstream intergenic CpG island methylation with survival in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 136(3):875-883.
- 36 Wang L, Zeng X, Chen S, et al. BRCA1 is a negative modulator of the PRC2 complex[J]. *EMBO J*, 2013, 32(11):1584-1597.