

长链非编码 MALAT-1 与泌尿系肿瘤关系的研究进展

兰州大学 郭少君, 田跃军

(1. 兰州大学第二临床医学院, 甘肃兰州 730030; 2. 兰州大学第二医院泌尿外科研究所, 甘肃兰州 730030)
(现代泌尿外科杂志 2017 年 1 月)

指导教师田俊强 副教授 主任医师

摘要: 肺腺癌转移转录本 1 (MALAT-1) 是一种长度约 8000 核苷酸, 缺乏开放的阅读框架, 无蛋白编码功能的 LncRNA 分子。MALAT-1 可改变 SR 蛋白分布发挥选择性剪切作用; 可通过 Pc2 和 Sp1 蛋白在转录和转录后水平参与基因的表达调控; 可参与 Wnt/ β -catenin、PI3K/Akt 等分子信号转导通路; 可调节 MYB 相关蛋白 B (B-MYB) 和异质核糖核蛋白 c (hnRNPC) 等分子蛋白而影响细胞周期。近来研究结果也证实 MALAT-1 作为一个促癌基因, 与泌尿系肿瘤的发生、发展密切相关。本文着重论述 MALAT-1 与泌尿系肿瘤的关系, 希望为其早期诊断和治疗提供一个新靶点。

关键词: 长链非编码 RNAs; MALAT-1; 泌尿系肿瘤; 癌基因

泌尿系肿瘤可发生于泌尿系统任何部位, 具有多源性和多发性的特性, 其中大部分为膀胱癌、肾癌、前列腺癌。在我国, 随着人们生活水平的提高, 近年来泌尿系肿瘤的发病率和死亡率呈增长趋势, 严重威胁着人们的健康。手术等传统疗法对泌尿系恶性肿瘤的治疗效果不佳, 探索出一种新型的治疗方法对于泌尿系肿瘤的治疗尤为重要, 研究发现肺腺癌转移转录本 1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript-1, MALAT-1) 在序列上存在着进化保守性, 且种属间具有高度同源的序列, 预示着其与泌尿系肿瘤以及多种肿瘤的发生发展密切相关^[1], 所以 MALAT-1 有望成为泌尿系肿瘤诊断的标志物和治疗靶点。

一、MALAT-1 的结构特点

LncRNA 是一组内源性、长度大于 200nt 的非编码 RNA 分子, 不具有蛋白编码功能, 可在转录水平、转录后水平、表观遗传学等方面参与基因表达的调控, 从而在细胞的增殖、侵袭、转移、凋亡等过程中发挥重要作用^[2]。MALAT-1 作为 LncRNA 家族成员之一, 最初是在研究人非小细胞肺癌中通过消减杂交法筛选出来的^[3]。MALAT-1 定位于人染色体 11q13.1 上, 在哺乳动物中高度保守。初生的转录产物 MALAT-1 转录本可通过 3' 端加工机制产生两条非编码 RNA, 这一过程主要由内源性的核糖核酸酶 RNase P 和 RNaseZ 完成。RNase P 首先结合转录本 3' 端附近的“三螺旋”结构, 剪切后释放出大小约 6.7kd 的 MALAT-1 和一条短 RNA。RNase Z 再次与短 RNA 结合剪切, 并经 CCA 添加酶修饰后形成约 61 nt 的高度保守的 tRNA 样转录本, 称为 mascRNA (MALAT-1-associated small cytoplasmic RNA), 最后定位于细胞质^[4-5]。MALAT-1 为使自身免遭降解, 于 3' 端构成了“三螺旋”结构, 这在一定程度取代了多聚腺苷酸[poly(A)], 也是 MALAT-1 不同于其他 LncRNA 被快速分解或以低水平表达的原因^[6]。

二、MALAT1 的作用机制

(一) MALAT-1 的选择性剪切

核散斑(nuclear speckles)区是一种模式核细胞的亚核结构, 没有包膜包裹, 含前体 mRNA (pre-mRNA) 剪接和加工因子, 能够为剪切和转录因子提供装配、修饰及储存的空间, 以激活转录位点或参与前 RNA

国家级大学生创新创业训练计划支持项目 (201610730172)

作者简介: 郭少君 (1993-)、女, 湖北荆门人, 临床专业, 2012 级本科在读。

的加工处理。MALAT-1 基因和 SR 蛋白特异性定位于核散斑区^[7]。SR 蛋白是剪接因子中一类重要的 RNA 结合蛋白，通常包含 1~2 个 RNA 识别单元和一个丝氨酸/精氨酸缩二氨酸富集的 RS 区域，在高等生物真核细胞中通过特异序列的识别和募集其他剪接因子形成剪接体，参与 pre-mRNA 的选择性剪接^[8]。

MALAT-1 定位于核散斑，主要依靠于 mRNA 的三种加工因子 RNPS1、SRm160 和 IBP160，siRNA 干扰后，MALAT-1 分散到核质中，失去调节基因表达的功能。除此之外，MALAT-1 序列本身还存在两个必需的独立结构域指导其定位于核散斑，分别位于 MALAT-1 序列的 1961-3040 nt 和 6387-7011 nt，这两个区域中的任何一个基因突变均可导致 MALAT-1 定位失常，游离到细胞质中，失去功能在胞核内^[9]。

（二）MALAT-1 在转录和转录后水平调控

MALAT-1 不仅可以作为一个平台通过募集剪接因子在转录后水平调控基因表达，亦可与 Pc2 (polycomb 2 protein) 结合，作为一种分子支架，在转录水平上激活受转录因子 E2F1 调控的生长控制基因，促进细胞增殖^[10]。还可与 Sp1 (Specificity protein 1) 转录因子结合，在 A549、HeLa、HepG2 细胞中，MALAT-1 的启动子结合在 Sp1 蛋白结合区 GC-结构域，MALAT-1 作为 Sp1 的下游调控因子，与 Sp1 结合后在肿瘤中高表达并促进着肿瘤的发生^[11]。

（三）MALAT-1 与细胞周期

全基因转录组分析提示 MALAT-1 在调控细胞周期 G/S 期和有丝分裂进程中发挥着重要作用。p53 作为 MALAT-1 下游的一个重要调节因子，MALAT-1 的过表达或缺失可部分使 p53 基因发生突变。MALAT-1 在细胞周期 G/S 期和 M 期呈高表达状态。当沉默 MALAT1 表达时，参与 G/S 期的相关基因表达水平下调，人类二倍体细胞由 G 期向 S 期过渡受阻，有丝分裂受影响，同时使 MYB 相关蛋白 B (B-MYB) 表达水平和 B-MYB 目标基因表达减少^[12]。有文献报道 B-MYB 也具有调控细胞周期的能力，在多种肿瘤中扮演着一个癌基因的角色^[13]，B-MYB 和 MALAT-1 之间存在一种正性调控关系，MALAT-1 通过调控 B-MYB 的表达而控制细胞周期。特异性核糖核蛋白 C (heterogeneous nuclear ribo-nucleoprotein C, hnRNPC) 是 mRNA 代谢所必需的核蛋白，在细胞增殖、分化中起着重要作用^[14]。MALAT-1 促使 hnRNPC 从细胞核转移至细胞质，激活内部核苷酸进入位点序列 (Internal ribosome entry site, IRES) 介导的转录，提高有丝分裂期 CDK11/PITSLREp58 蛋白水平，这一系列的活动是细胞经历 G₂/M 期，进入下一环节的关键条件^[15]。对细胞周期内不同阶段研究发现，MALAT-1 转录本也从细胞核移至细胞质，分布与 hnRNPC 相一致。进一步的证据显示，MALAT-1 与 hnRNPC 在细胞质内互相作用，使 hnRNPC 的位置发生转换，沉默 MALAT-1 的表达使 hnRNPC 在 G₂/M 期无法移位，同时使细胞 G₂/M 期停滞^[16]。

（四）MALAT-1 与分子信号通路

MALAT-1 可促进增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、磷酸化的 PI3Kp85 α 、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶 Akt 活化，进而激活 PI3K/Akt 信号通路^[17]。MALAT-1 促进 β -连环蛋白 (β -catenin) 和它下游的靶基因 c-Myc、MMP-7 表达增加，进而激活 Wnt/ β -catenin 信号通路^[18]。当沉默 MALAT-1 的表达，抑癌基因 (WNT inhibitory factor 1, WIF1) 被激活，而 WIF1 在 Wnt 信号通路中起着负调控作用，进而 Wnt/ β -catenin 信号通路被抑制^[19]。

三、MALAT-1与泌尿系肿瘤

（一）MALAT-1 与膀胱癌

膀胱癌是在一个多基因参与、多因素混合的复杂过程中形成的，异常基因的积累和外在的环境共同作用导致了其恶性表型的出现^[20-21]。YING等^[22]研究发现，当沉默MALAT-1表达后，与上皮间质转化

(epithelial-mesenchymal transition, EMT) 相关的锌指E盒结合同源异形盒蛋白1 (zinc finger E-boxbinding homeobox 1, ZEB1)、ZEB2和转录因子Slug等表达减少，参与Wnt信号通路的关键分子 β -catenin积聚减少，而与细胞粘附相关的钙黏连蛋白 (E-cadherin) 表达却大幅增加。以往研究证实EMT是肿瘤发生的重要环节，而E-cadherin表达缺失作为其中的一个关键过程，可提高肿瘤细胞的侵袭和转移能力。YING等^[23]认为膀胱尿路上皮癌中高表达MALAT-1可能通过部分激活Wnt信号通路，诱导癌细胞的EMT形成，促进肿瘤转

移。HAN等^[24]研究发现MALAT-1在膀胱癌组织的表达水平明显高于癌旁组织，高级别膀胱尿路上皮癌中MALAT-1的表达水平高于低级别上皮癌。另外，用siRNA沉默MALAT-1的表达后，膀胱癌细胞增殖活性明显受到抑制，细胞凋亡明显增多，细胞侵袭及转移能力明显降低。同时他们还发现在膀胱癌细胞中，miR-125b对MALAT-1起着负性调控作用，而既往证明miR-125b在膀胱癌细胞中表达降低，是一个抑癌基因，正是由于miR-125b在膀胱癌细胞中表达缺失，从而激活MALAT-1并促进膀胱癌的发生。FAN等^[25]研究发现在膀胱癌细胞株中，TGF- β 诱导MALAT-1的表达促进了EMT的发生，随着MALAT-1的表达升高，膀胱癌患者有一个更加不良的预后。而且MALAT-1和E-cadherin之间有一个负相关，当沉默MALAT-1的表达水平时，TGF- β 表达降低，激活EMT的发生，MALAT-1紧密联系肿瘤抑制因子zeste12 (suz12)，正是由于MALAT-1与zeste12的结合，E-cadherin的表达降低，N-cadherin和fibronectin的表达水平升高。他们认为靶向抑制MALAT-1或者suz12，能降低TGF- β 诱导的侵袭和转移能力。FU等^[26]选择MALAT-1、UCA1、c-Myc作为microRNAs的目的基因，在膀胱癌细胞株T24和5637进行测试，他们用人工合成的microRNAs沉默靶基因MALAT-1、UCA1、c-Myc的表达，发现膀胱癌细胞株T24和5637的增殖、转移能力明显受到抑制，细胞凋亡增加，这显示了MALAT-1在膀胱癌中起着促癌基因的作用。

（二）MALAT-1与前列腺癌

研究发现前列腺癌的形成除与年龄、遗传、环境和性激素等因素相关外，DNA结构的改变和表观遗传学方面的作用也在前列腺癌形成中起着重要作用^[27]。REN等^[28]证实MALAT-1在前列腺癌组织和癌细胞株中显著高于癌旁组织和正常细胞株，其表达量与前列腺癌患者的Gleason分级、PSA水平、肿瘤分期呈正相关。用siRNA敲低MALAT-1的表达量能明显抑制前列腺癌细胞的增殖、侵袭和转移能力，阻滞细胞周期于G0/G1期。另有研究^[29]报道MALAT-1以片段的形式稳定存在于人类血浆中，通过在血浆中筛检出的9个MALAT-1片段，发现其表达量在前列腺癌各不相同，将其中表达量最高的MALAT-1片段命名为MD-miniRNA，发现血清MD-miniRNA在诊断前列腺癌的敏感性和特异性方面显著优于血清PSA。WANG等^[30]研究证明MALAT-1在前列腺癌以及多种恶性肿瘤中高表达，发生转移的原发性肿瘤MALAT-1的表达量显著高于未发生转移的原发性肿瘤，减少MALAT-1的表达可以有效抑制前列腺癌转移和侵袭能力，在前列腺癌的诊断中MALAT-1的灵敏性和特异性等方面显著优于前列腺癌其他的多项诊断指标，包括PCA3、总PSA、血清PSA、直肠指检等，特别是在PSA水平为4–10 ng/ml时，此时PSA的特异性最低，将MALAT-1作为肿瘤标志物，可以在在不遗漏任何恶性肿瘤检出率的情况下，有效减少30.2%-46.5%的不必要活检。他们认为MALAT-1在预测前列腺癌风险性的诊断中是一个有用的生物指标。

（三）MALAT-1与肾癌

肾癌也称肾细胞癌，其大部分为肾透明细胞癌，发病机制极其复杂，其中牵涉到众多基因突变以及PI3K/Akt/mTOR等多条信号通路的过度激活^[31-32]。有研究发现在肾癌中MALAT-1可与转录因子TFFB形成融合体，TFFB作为转录因子调控多个重要通路，两者融合后保护TFFB的整个编码序列，进而显著提高TFFB蛋白表达水平，促进肿瘤的发生发展^[33]。ZHANG等^[34]研究发现MALAT-1在肾癌组织和肾癌细胞株中表达水平显著高于癌旁组织和正常肾细胞株；MALAT-1表达水平与肾癌细胞的肿瘤大小、临床分期、淋巴结转移密切相关。Kaplan-Meier曲线分析显示伴随着MALAT-1表达水平在肾癌中越高，患者的预后越差。HIRATA等研究发现在肾癌细胞中组蛋白甲基转移酶同源序列2增强子（enhancer of zeste homolog 2, EZH2）和MALAT-1之间也有一个正相关，既往研究证实EZH2作为一个癌基因在多种肿瘤中高表达，MALAT-1通过EZH2调控下游效应物，EZH2介导H3K27的甲基化，同时MALAT-1通过介导EZH2通道，激活EMT信号通路从而促进肿瘤的转移。他们又证明了MALAT-1与miR-205之间的相互关系，miR-205在肾癌中作为一个抑癌基因，研究发现当过表达miR-205时，MALAT-1表达降低，这又进一步验证了MALAT-1在肾癌中扮演着癌基因的角色^[35-37]。

四、展望

近年来，MALAT-1的研究已明确提示该类分子具有广泛的生物学功能，MALAT-1对肿瘤的调控作用有一些具体调控途径已经得到证实，但是其与泌尿系肿瘤方面之间还有很多问题尚不清楚，与泌尿系肿瘤的诊断治疗及预后之间的联系需要更多的证据证实，如何采用有效的方法干预MALAT-1在肿瘤中的表

达, 或将其抑制剂转入肿瘤细胞抑制肿瘤的生长, 是我们下一步需要解决的问题。相信随着我们对其更深入的研究, 其必将在泌尿系肿瘤的临床应用方面取得一个新的突破。

参考文献:

- [1] GUTSCHNER, HAMMERLE M, DIEDERICH S. MALAT1 -- a paradigm for long noncoding RNA function in cancer[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91(7):791-801.
- [2] SANTOSH B, VARSHNEY A, YADAVA PK. Non-coding RNAs: biological functions and applications[J]. *Cell biochemistry and function*, 2015, 33(1):14-22.
- [3] JI P, DIEDERICH 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.
- [4] AFFYMETRIX ETP, COLD SPRING HARBOR LABORATORY ETP. Post-transcriptional processing generates a diversity of 5'-modified long and short RNAs[J]. *Nature*, 2009, 457(7232):1028-1032.
- [5] WILUSZ JE, FREIER SM, SPECTOR DL. 3' end processing of a long nuclear-retained noncoding RNA yields a tRNA-like cytoplasmic RNA[J]. *Cell*, 2008, 135(5):919-932.
- [6] WILUSZ JE, JNBAPTISTE CK, LU LY, et al. A triple helix stabilizes the 3' ends of long noncoding RNAs that lack poly(A) tails[J]. *Genes Dev*, 2012, 26(21):2392-2407.
- [7] CLEMSON CM, HUTCHINSON JN, SARA SA, et al. An architectural role for a nuclear noncoding RNA: NEAT1 RNA is essential for the structure of paraspeckles[J]. *Mol Cell*, 2009, 33(6):717-726.
- [8] ZHOU Z, FU XD. Regulation of splicing by SR proteins and SR protein-specific kinases[J]. *Chromosoma*, 2013, 122(3):191-207.
- [9] MIYAGAWA R, TANO K, MIZUNO R, et al. Identification of cis- and trans-acting factors involved in the localization of MALAT-1 noncoding RNA to nuclear speckles[J]. *RNA*, 2012, 18(4):738-751.
- [10] YANG L, LIN C, LIU W, et al. ncRNA- and Pc2 methylation-dependent gene relocation between nuclear structures mediates gene activation programs[J]. *Cell*, 2011, 147(4):773-788.
- [11] LI S, WANG Q, QIANG Q, et al. Sp1-mediated transcriptional regulation of MALAT1 plays a critical role in tumor[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015.
- [12] TRIPATHI V, SHEN Z, CHAKRABORTY A, et al. Long noncoding RNA MALAT1 controls cell cycle progression by regulating the expression of oncogenic transcription factor B-MYB[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(3):e1003368.
- [13] KLEIN DK, HOFFMANN S, AHLKOG JK, et al. Cyclin F suppresses B-Myb activity to promote cell cycle checkpoint control[J]. *Nat Commun*, 2015, 6:5800.
- [14] HOSSAIN MN, FUJI M, MIKI K, et al. Downregulation of hnRNP C1/C2 by siRNA sensitizes HeLa cells to various stresses[J]. *Mol Cell Biochem*, 2007, 296(1-2):151-157.
- [15] SCHEPENS B, TINTON SA, BRUYNOOGHE Y, et al. A role for hnRNP C1/C2 and Unr in internal initiation of translation during mitosis[J]. *EMBO J*, 2007, 26(1):158-169.
- [16] YANG F, YI F, HAN X, et al. MALAT-1 interacts with hnRNP C in cell cycle regulation[J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(19):3175-3181.
- [17] DONG Y, LIANG G, YUAN B, et al. MALAT1 promotes the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells by activating the PI3K/Akt pathway[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(3):1477-1486.
- [18] JI Q, LIU X, FU X, et al. Resveratrol inhibits invasion and metastasis of colorectal cancer cells via MALAT1 mediated Wnt/beta-catenin signal pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e78700.
- [19] VASSALLO I, ZINN P, LAI M, et al. WIF1 re-expression in glioblastoma inhibits migration through attenuation of non-canonical WNT signaling by downregulating the lncRNA MALAT1[J]. *Oncogene*, 2015.
- [20] BURGER M, CATTO JW, DALBAGNI G, et al. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer [J]. *Eur Urol*, 2013, 63(2):234-241.
- [21] 白云金, 李金洪, 魏强, 等. 膀胱癌病因学研究进展[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2014, 19(10):693-697.

- [22] CHA YH, YOOK JI, KIM HS, et al. Catabolic metabolism during cancer EMT[J]. Arch Pharm Res, 2015,38(3):313-320.
- [23] YING L, CHEN Q, WANG Y, et al. Upregulated MALAT-1 contributes to bladder cancer cell migration by inducing epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Mol Biosyst, 2012,8(9):2289-2294.
- [24] HAN Y, LIU Y, ZHANG H, et al. Hsa-miR-125b suppresses bladder cancer development by down-regulating oncogene SIRT7 and oncogenic long non-coding RNA MALAT1[J]. FEBS Lett, 2013,587(23):3875-3882.
- [25] FAN Y, SHEN B, TAN M, et al. TGF-beta-induced upregulation of malat1 promotes bladder cancer metastasis by associating with suz12[J]. Clin Cancer Res, 2014,20(6):1531-1541.
- [26] FU X, LIU Y, ZHUANG C, et al. Synthetic artificial microRNAs targeting UCA1-MALAT1 or c-Myc inhibit malignant phenotypes of bladder cancer cells T24 and 5637[J]. Mol Biosyst, 2015,11(5):1285-1289.
- [27] FRIEDLANDER TW, ROY R, TOMLINS SA, et al. Common structural and epigenetic changes in the genome of castration-resistant prostate cancer[J]. Cancer Res, 2012,72(3):616-625.
- [28] REN S, LIU Y, XU W, et al. Long noncoding RNA MALAT-1 is a new potential therapeutic target for castration resistant prostate cancer[J]. J Urol, 2013,190(6):2278-2287.
- [29] REN S, WANG F, SHEN J, et al. Long non-coding RNA metastasis associated in lung adenocarcinoma transcript 1 derived miniRNA as a novel plasma-based biomarker for diagnosing prostate cancer[J]. Eur J Cancer, 2013,49(13):2949-2959.
- [30] WANG F, REN S, CHEN R, et al. Development and prospective multicenter evaluation of the long noncoding RNA MALAT-1 as a diagnostic urinary biomarker for prostate cancer[J]. Oncotarget, 2014,5(22):11091-11102.
- [31] CANCER GENOME ATLAS RESEARCH N. Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma[J]. Nature, 2013,499(7456):43-49.
- [32] 陈锐, 周桥. 肾细胞癌的病理诊断与研究进展[J]. 现代泌尿外科杂志, 2016,21(3):164-169.
- [33] KAUFFMAN EC, RICKETTS CJ, RAIS-BAHRAMI S, et al. Molecular genetics and cellular features of TFE3 and TFEB fusion kidney cancers[J]. Nat Rev Urol, 2014,11(8):465-475.
- [34] ZHANG HM, YANG FQ, CHEN SJ, et al. Upregulation of long non-coding RNA MALAT1 correlates with tumor progression and poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma[J]. Tumour Biol, 2015,36(4):2947-2955.
- [35] MAJID S, SAINI S, DAR AA, et al. MicroRNA-205 inhibits Src-mediated oncogenic pathways in renal cancer[J]. Cancer Res, 2011,71(7):2611-2621.
- [36] 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 Res, 2015,75(7):1322-1331.
- [37] JIANG T, WANG Y, ZHOU F, et al. Prognostic value of high EZH2 expression in patients with different types of cancer: a systematic review with meta-analysis[J]. Oncotarget, 2016,7(4):4584-4597.