

非编码RNA在胃肠间质瘤中的研究进展

王春萌, 陈杰, 师英强

复旦大学附属肿瘤医院胃及软组织外科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032

[摘要] 胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是消化道最常见的间叶源性肿瘤, 发病原因主要是由于原癌基因受体酪氨酸激酶或血小板衍生生长因子受体基因活化突变。分子靶向治疗药物甲磺酸伊马替尼是抑制KIT、血小板衍生生长因子受体 α 多肽(platelet-derived growth factor receptor alpha, *PDGFRA*)基因酪氨酸激酶活性的药物, 其能有效治疗进展期GIST。但是, 越来越多的研究发现, 甲磺酸伊马替尼在治疗GIST过程中存在原发性耐药和继发性耐药。随着近年来对非编码RNA的生理功能和作用机制的深入研究, 使人们逐步认识到非编码RNA对基因表达的广泛调控作用, 其在肿瘤发生、发展、侵袭、转移和耐药等过程中扮演着重要角色。研究非编码RNA有可能为探讨GIST发病及耐药机制提供新的思路 and 方向。

[关键词] 胃肠间质瘤; 甲磺酸伊马替尼; 非编码RNA

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2015.05.013

中图分类号: R735.2; R735.3 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2015)05-0392-05

Research progress of non-coding RNA in gastrointestinal stromal tumor WANG Chunmeng, CHEN Jie, SHI Yingqiang (Department of Gastric Cancer and Soft Tissue Sarcomas, Fudan University Shanghai Cancer Center; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: SHI Yingqiang E-mail: yingqiangshi@126.com

[Abstract] Gastrointestinal stromal tumor (GIST) is the most common gastrointestinal mesenchymal tumors, mainly due to the onset of the proto-oncogene receptor tyrosine kinase, or platelet-derived growth factor receptor gene activating mutations. Molecular targeted therapy drug of imatinib mesylate inhibit *KIT*, platelet-derived growth factor receptor aloha (*PDGFRA*) gene tyrosine kinase activity, which is effective in patients with advanced GIST. However, a growing number of studies have found the presence of imatinib mesylate in primary and secondary drug resistance in the treatment of GIST process. With the in-depth study of the physiological function and mechanism of action of non-coding RNA in recent years, making it gradually realized extensive regulation of non-coding RNA gene expression, which occurs in tumor development, invasion and metastasis, drug resistance and other processes plays an important role. Non-coding RNA has the potential to explore GIST pathogenesis and resistance mechanisms to provide new ideas and direction.

[Key words] Gastrointestinal stromal tumor; Imatinib mesylate; Non-coding RNA

胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是消化道最常见的间叶源性肿瘤, 起源于Cajal间质细胞, 主要发生于胃和小肠, 偶有发生于腹膜后、网膜和肠系膜, 约占全部胃肠道恶性肿瘤的2.2%(1%~3%)^[1]。目前认为, GIST的发病原因主要是由于原癌基因受体酪氨酸激酶KIT

或血小板衍生生长因子受体 α 多肽(platelet-derived growth factor receptor alpha, *PDGFRA*)基因活化突变, 下游信号通路异常激活, 细胞增殖过度、凋亡受到抑制并转化为肿瘤细胞所致^[2]。根据基因突变类型, 胃肠道间质瘤大致分成KIT突变型(80%~85%)、*PDGFRA*突变型(5%~10%)和野生型(10%)^[3-5]。这些为引入分子靶向治疗药物甲磺酸伊马替尼提供了理论基础。甲磺酸伊马替尼

是抑制KIT、PDGFRA基因酪氨酸激酶活性的药物,能有效治疗进展期GIST,并取得非常满意的疗效^[6]。但是,越来越多的研究发现,甲磺酸伊马替尼在治疗GIST过程中存在原发性耐药和继发性耐药,且耐药机制复杂。因此,单靠靶向KIT抑制剂不能使所有的GIST患者获益,尤其是野生型GIST患者。近年来非编码RNA研究取得了新的突破,它是一大类不具有蛋白编码潜能的RNA转录本,能够在生物体内大量存在。对细胞中非编码RNA及其基因的发掘和功能研究,揭示出一个全新的由非编码RNA介导的遗传信息传递方式和表达调控网络。他们在细胞功能及命运决定、基因组稳定性、生命新陈代谢和多样性维持中发挥重要作用。目前,微小RNA(microRNA, miRNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和最新研究热点环状RNA(circular RNA, circRNA)均为调控性非编码RNA。在小分子非编码RNA和新高通量技术的带动下,更多非编码RNA,特别是大分子非编码RNA也被大量鉴定出来。随着近年来对非编码RNA的生理功能和作用机制的深入研究,使得人们逐步认识到非编码RNA对基因表达的广泛调控作用,其在肿瘤发生、发展、侵袭、转移和耐药等过程中扮演着重要角色。因此,研究非编码RNA有可能为探讨GIST发病及耐药机制提供新的思路和方向。本研究就非编码RNA在GIST中的研究进展进行综述。

1 miRNA与GIST

miRNA是一类长度约为19~25个核苷酸的非编码小分子RNA,主要通过与其靶基因的配对结合,降解靶基因mRNA或抑制其翻译,介导转录的上调或者下调,对信号通路进行调控,从而影响细胞的生物学行为^[7]。大量研究表明,miRNA可以通过调节细胞周期、细胞凋亡、细胞迁移和血管生成等肿瘤相关基因的表达,参与肿瘤的发生、发展、侵袭及转移^[8]。Subramanian等^[9]首先发现在GIST中有miRNA的表达。通过基因芯片、RNA测序及生物学技术的方法发现,miR-221和miR-222在GIST中显著低表达。根据先前的研究发现^[10],miR-

221和miR-222在白血病细胞中能够与KIT基因的mRNA 3'-UTR端结合,进而调控KIT的表达,最终抑制白血病细胞的增殖与分化。由此推断在大部分存在KIT基因突变的GIST患者中,这些miRNA同样靶向作用KIT mRNA 3'-UTR端,直接导致KIT翻译下降,致瘤能力减弱。Koelz等^[11]研究发现了同样结果,即与其他恶性肿瘤相比,miR-221和miR-222在多数GIST中低表达,而且在KIT阳性的GIST中,miR-221和miR-222表达比KIT阴性GIST的患者更低,并且他们的表达水平与肿瘤细胞的核分裂呈负相关。这一结果提示这两个miRNA可能与GIST肿瘤细胞的恶性程度密切相关。miR-221的靶基因包括KIT,而KIT在大部分GIST中高表达,并且是甲磺酸伊马替尼治疗GIST的靶点。这提示我们未来可以通过生物合成RNA分子沉默或抑制KIT基因表达来治疗GIST,尤其是针对甲磺酸伊马替尼耐药的GIST。

目前有关GIST中miRNA的研究相对较少。Choi等^[12]用聚类分析的方法对已经筛选出的miRNA进行分析后发现,miRNA的表达情况与14号染色体的缺失、GIST的危险度分级以及间质瘤的发生部位明显相关。Haller等^[13]通过对GIST中差异表达的44个miRNA研究发现,这些miRNA都定位于14号染色体,并且用生物信息学方法预测靶基因后发现,有22个靶基因作用于KIT或者PDGFRA的信号通路,12个靶基因与细胞周期相关。研究者进一步用实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测差异的miRNA后,证实了miR-134和miR-370在14q缺失的GIST和高度恶性的GIST中明显低表达,提示部分miRNA可能对GIST的生物学行为和临床特点有重要作用。

目前,miRNA与GIST耐药的相关研究还处在启萌阶段。Zhu等^[14]首次发现miRNA与耐药的相关性。miR-27a和miR-451在A2780DX5和KB-V1这两株耐药细胞株中高表达,而且有可能通过对多药耐药基因的调节发挥生物学作用^[15]。San José-Enériz等^[16]在甲磺酸伊马替尼治疗有效和原发性耐药的慢性粒细胞性

白血病患者之间发现了19个显著差异表达的miRNA。其中部分miRNA的靶基因可能是膜转运蛋白基因, 如*ABCC5*、*ABCA1*、*ABCB6*等。miRNA是在转录后抑制KIT和PDGFRA致瘤蛋白的表达从而发挥作用, 而KIT等基因的二次突变是导致甲磺酸伊马替尼耐药的主要原因之一^[17]。因此, 可根据GIST中差异表达的miRNA, 预测其相应的靶基因, 然后根据靶基因与GIST的内在联系, 推测这些miRNA与GIST发生、发展及耐药之间的作用机制。如上调GIST中低表达的miR-221或miR-222, 或者对KIT和其他靶向基因具有抑制作用的miR-17-92, 从而找到针对GIST耐药的有效途径。这为GIST的治疗尤其是对甲磺酸伊马替尼无效或耐药患者的治疗提供了新的思路。

2 LncRNA与GIST

LncRNA是由超过大约200个核苷酸构成, 无明显蛋白编码功能的RNA, 在生物体基因组中普遍存在, 并参与细胞周期、细胞凋亡、干细胞多能性及热休克反应等多种生理活动^[18]。近年来研究表明, lncRNA参与了性染色体的沉默、修饰和基因组修饰、转录激活、转录干扰等重要的生物学过程, 而且具有促进细胞凋亡和细胞分化等多项功能^[19]。

目前有关lncRNA与肿瘤的研究较多。在肿瘤发生、发展的基因调节网络中, 蛋白编码基因和非编码基因的异常调节已经得到了公认^[20]。然而到目前为止, 对GIST中lncRNA功能及作用机制的研究相当有限。2007年斯坦福大学的Rinn等^[21]报道了一条长约2.2 kb的功能性长链非编码RNA基因, 其是一种典型的反义长链非编码RNA, 也是第一个被发现具有反式转录作用的lncRNA, 主要通过反式作用沉默染色质, 且编码其DNA仅有一条链可被转录, 并与*HOX*基因序列不在同一条DNA链上, 因此, 将其命名为*HOTAIR*。2012年, Niinuma等^[22]研究发现lncRNA *HOTAIR*在GIST中高表达, 并且其表达水平与GIST的肿瘤大小、核分裂像数目、侵袭转移能力及生存率密切相关。与低危或中危GIST相比, *HOTAIR*表达在

高危GIST中较高, 同时Kaplan-Meier生存分析显示, *HOTAIR*高表达的GIST患者预后较差。另外研究发现, miR-196a在这部分GIST中同样高表达, 并且*HOTAIR*与miR-196a的表达呈正相关。*HOTAIR*与miR-196a表达越高, GIST的危险度越高, 转移能力越强, 总体生存率越差。研究者还发现, 上调*HOTAIR*后, 能够促进GIST细胞的侵袭与迁移; 进一步用siRNA干扰*HOTAIR*后, 却能够抑制GIST细胞侵袭能力。这说明*HOTAIR*不仅与上皮来源肿瘤的转移和侵袭能力相关, 而且还与间叶组织来源的间质瘤的侵袭相关。这项研究拓宽了长链非编码RNA介导肿瘤转移的范围, 提示长链非编码RNA在调控肿瘤的转移中具有重要意义。同时, miR-196a的改变通常伴随着*HOXC*基因和转移相关的lncRNA *HOTAIR*基因上调。因此, miR-196a可以作为评估GIST危险程度的一项可靠指标。而*HOXC*基因位点的活化也为GIST靶向治疗提供新的思路。*HOTAIR*能与一个或几个miRNA竞争性结合, 进而发挥特定的生物学功能, 丰富lncRNA与蛋白质调控网络, 可能为探讨GIST的发生、发展的分子机制和耐药机制带来新线索。由此证明, 长链非编码RNA可能是GIST恶性程度及预后的生物标志物, 同时有可能成为GIST有效的治疗靶点。

3 展望

随着RNA测序技术的不断发展, 在miRNA和lncRNA的研究基础上, 最近有研究发现了另外一种特殊的小分子RNA(circRNA)。其是一类通常由1个外显子以上、非线性的、自我环化的非编码RNA分子, 也是目前RNA领域最新的研究热点^[23]。circRNA主要是通过“外显子反向剪接成环”形成, 常定位于细胞质中。并且与传统的线性RNA(linear RNA, 含5'和3'末端)不同, circRNA分子呈封闭环状结构, 不受RNA外切酶影响, 表达更稳定, 不易降解。最近有研究表明, circRNA分子富含miRNA结合位点, 在细胞中起到miRNA海绵的作用, 进而解除miRNA对其靶基因的抑制作用, 升高靶基因的表达水平, 能结合并抑制miRNA的作用。通过

与疾病关联的miRNA相互作用, circRNA在疾病中发挥着重要的调控作用^[24-25]。因此,有学者推测, circRNA同样有可能与*KIT*或*PDGFRA*基因相关的miRNA结合,从而调控*KIT*或*PDGFRA*基因的表达。希望通过对GIST标本进行去核糖体RNA高通量测序,找到并鉴定出差异常表达的circRNA;阐明circRNA在GIST中的作用机制,为GIST提供新的治疗靶点,但这些工作还有待进一步探讨及验证。

靶向药物甲磺酸伊马替尼应用于GIST的治疗,使GIST的研究取得巨大进步^[26]。但随着用药时间的延长,部分患者出现耐药现象,耐药的中间时间为17~24个月^[27]。尽管很快发现二线药物舒尼替尼,甚至三线药物索拉非尼,仍然有部分患者在短暂缓解后再次出现耐药情况,最终导致治疗的失败。然而,有关非编码RNA的研究发现,其与肿瘤的发生、侵袭和耐药性等密切相关,并且起着癌基因或抑癌基因的作用,这为研究GIST的耐药现象提供新的思路和方法。

[参 考 文 献]

- [1] NILSSON B, BÜMMING P, MEIS-KINDBLOM J M, et al. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era—a population-based study in western Sweden [J] . *Cancer*, 2005, 103(4): 821–829.
- [2] CORLESS C L, MCGREEVEY L, HALEY A, et al. KIT mutations are common in incidental gastrointestinal stromal tumors one centimeter or less in size [J] . *Am J Pathol*, 2002, 160(5): 1567–1572.
- [3] SCHAEFER I M, DELFS C, CAMERON S, et al. Chromosomal aberrations in primary PDGFRA-mutated gastrointestinal stromal tumors [J] . *Hum Pathol*, 2014, 45(1): 85–97.
- [4] PALMIROTA R, DE MARCHIS M L, LUDOVICI G, et al. Mutational analysis of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): procedural approach for diagnostic purposes [J] . *Cancer Genomics Proteomics*, 2013, 10(3): 115–123.
- [5] CORLESS C L. Gastrointestinal stromal tumors: what do we know now? [J] . *Mod Pathol*, 2014, 27 Suppl 1: S1–S16.
- [6] DEMETRI G D, VON MEHREN M, BLANKE C D, et al. Efficacy and safety of imatinibmesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors [J] . *N Engl J Med*, 2002, 347(7): 472–480.
- [7] DUISTERS R F, TIJSEN A J, SCHROEN B, et al. miR-133 and miR-30 regulate connective tissue growth factor: implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling [J] . *Circ Res*, 2009, 104(2): 170–178.
- [8] CALIN G A, SEVIGNANI C, DAN DUMITRU C, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers [J] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(9): 2999–3004.
- [9] SUBRAMANIAN S, LUI W O, LEE C H, et al. MicroRNA expression signature of human sarcomas [J] . *Oncogene*, 2008, 27(14): 2015–2026.
- [10] FELLI N, FONTANA L, PELOSI E, et al. MicroRNAs 221 and 222 inhibit normal erythropoiesis and erythroleukemic cell growth via KIT receptor down-modulation [J] . *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(50): 18081–18086.
- [11] KOELZ M, LENSE J, WRBA F, et al. Down-regulation of miR-221 and miR-222 correlates with pronounced KIT expression in gastrointestinal stromal tumors [J] . *Int J Oncol*, 2011, 38(2): 503–511.
- [12] CHOI H J, LEE H K, KWON J E, et al. MicroRNA expression Profile of gastrointestinal stromal tumors is distinguished by 14q loss and anatomic site [J] . *Int J Cancer*, 2007, 126(7): 1640–1650.
- [13] HALLER F, VON HEYDEBREEK A, ZHANG J D, et al. Localization- and mutation-dependent microRNA (miRNA) expression signatures in gastrointestinal stromal tumours (GISTs), with a cluster of coexpressed miRNAs located at 14q32.31 [J] . *J Pathol*, 2010, 220(1): 71–86.
- [14] ZHU H, WU H, LIU X, et al. Role of microRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of MDR1/P-glycoprotein expression in human cancer cells [J] . *Biochem Pharmacol*, 2008, 76(5): 582–588.
- [15] XIA L, ZHANG D X, DU R, et al. miR-15b and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL-2 in human gastric cancer cells [J] . *Int J Cancer*, 2008, 123(2): 372–379.
- [16] SAN JOSÉ-ENÉRIZ E, ROMÁN-GÓMEZ J, JIMÉNEZ-VELASCO A, et al. MicroRNA expression profiling in Imatinib-resistant Chronic Myeloid Leukemia patients without clinically significant ABL1-mutations [J] . *Mol Cancer*, 2009, 8: 69.
- [17] 王春萌, 师英强, 董锐增, 等. 伊马替尼耐药胃肠间质瘤的免疫组化和基因特征 [J] . *肿瘤*, 2008, 28(12): 1064–1068.
- [18] DERRIENT, JOHNSON R, BUSSOTTI G, et al. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression [J] . *Genome Res*, 2012, 22(9): 1775–1789.
- [19] NAGANO T, FRASER P. No-nonsense functions for long noncoding RNAs [J] . *Cell*, 2011, 145(2): 178–181.
- [20] GRASSO C S, WU Y M, ROBINSON D R, et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate

- cancer [J]. *Nature*, 2012, 487(7406): 239–243.
- [21] RINN J L, KERTESZ M, WANG J K, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs [J]. *Cell*, 2007, (7): 1311–1323.
- [22] NIINUMA T, SUZUKI H, NOJIMA M, et al. Upregulation of miR-196a and HOTAIR drive malignant character in gastrointestinal stromal tumors [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(5): 1126–1136.
- [23] JECK W R, SORRENTINO J A, WANG K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. *RNA*, 2013, 19(2): 141–157.
- [24] 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.
- [25] HANSEN T B, JENSEN T I, CLAUSEN B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 384–388.
- [26] DEMETRI G D, VON MEHREN M, BLANKE C D, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors [J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(7): 472–480.
- [27] CHEN L L, SABRIPOUR M, ANDTBACKA R H, et al. Imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors [J]. *Curt Oncol Rep*, 2005, 7(4): 293–299.
- (收稿日期: 2014-12-03 修回日期: 2015-03-08)