

恶性肿瘤中 HOTAIRM1 的调控作用及机制

赵俞乔, 苏志雷, 崔云甫, 关沧海, 姜兴明*

(哈尔滨医科大学附属第二医院 胆胰外科, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: HOTAIRM1 是一种新近发现的长链非编码 RNA(lncRNA), 其在多种恶性肿瘤中呈现异常表达, 并通过特定的信号传导途径调控 mRNA、miRNA 以及相应靶基因和靶蛋白, 从而在肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭中起到重要作用。同时, HOTAIRM1 与临床病理学和分子病理学密切相关, 在患者的治疗和预后评估中也显现出巨大的潜力。

关键词: 长链非编码 RNA; HOTAIRM1; 肿瘤; 调控作用

中图分类号: R730 文献标志码: A

Regulatory effects and mechanisms of HOTAIRM1 in malignant tumors

ZHAO Yu-qiao, SU Zhi-lei, CUI Yun-fu, GUAN Cang-hai, JIANG Xing-ming*

(Department of HPB Surgery, the 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

Abstract: HOTAIRM1, a newly found long non-coding RNA (lncRNA), is abnormally expressed in diverse malignant tumors, regulated mRNA, miRNA, relevant target gene or protein through specific signal transduction pathways to function in mechanisms of proliferation, invasion and metastasis of tumor cells. HOTAIRM1 is closely related to the clinicopathology or molecular pathology and have shown great potential in therapy and predicting prognosis of patients.

Key words: long non-coding RNA; HOTAIRM1; tumors; regulatory effects

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) 是一种长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA, 最初被认为是基因组转录的“噪音”或 RNA 聚合酶 II 转录的副产物。随着转录组测序技术的发展, lncRNA 对 mRNA 剪接、染色质修饰、蛋白活性等一系列生物学过程的调节作用逐渐被揭示, 并可以在表观遗传、转录和转录后水平等层面调控细胞内基因的表达^[1-3]。近年来研究发现 lncRNA 对恶性肿瘤发生发展具有重要的调控作用, 本研究团队也得到相同研究结果。粒细胞特异表达的 HOXA 转录本反义 RNA1 (HOXA transcript antisense RNA myeloid-

specific 1, HOTAIRM1) 是一种长度为 5 415 nt 的 lncRNA, 位于 7 号染色体 HOXA 基因簇 HOXA1 和 HOXA2 之间并与 HOXA1 的转录起始位点共享 CpG 岛, 其在全反式维甲酸 (all-trans retinoic acid, ATRA) 处理的 NB4 细胞中呈高表达并诱导 NB4 向粒细胞分化。目前研究证实 HOTAIRM1 参与骨关节炎、多发性硬化等疾病的病理过程, 并对房颤的诊断具有辅助作用^[4-6]。此外, HOTAIRM1 在多种恶性肿瘤中异常表达, 能够在细胞分化、细胞周期和凋亡中发挥调控作用且与肿瘤患者的临床病理数据密切相关, 可能作为肿瘤诊断和患者预后评估的分子

收稿日期: 2020-02-17 修回日期: 2020-04-26

基金项目: 国家自然科学基金(81602088)

* 通信作者 (corresponding author): xmjiang@hrbmu.edu.cn

标志物。本文就恶性肿瘤中 HOTAIRM1 的调控作用及机制作一综述。

1 HOTAIRM1 与神经系统肿瘤

胶质瘤干细胞(GSC2、GSC5、U251-SLC、U87MG-SLC)中 HOTAIRM1 的两种转录本均呈异常高表达。过表达 HOTAIRM1 后功能实验检测发现肿瘤球形成能力显著提高,干性标志物 NESTIN、OCT4 (organic cation transporter 4)、SOX2 (SRY-box transcription factor 2) 表达上调且 OCT4 启动子区的转录活性增强; ATRA 处理 GSC2 细胞后 HOTAIRM1 表达显著下调^[7]。

胶质瘤干细胞中 HOTAIRM1 及其邻近基因 *HOXA2* (homeobox A2)、*HOXA3* (homeobox A3) 表达均增高;外源性沉默 HOTAIRM1 可以抑制胶质瘤干细胞的增殖、致瘤性和自我更新同时促进细胞凋亡发生。此外,HOTAIRM1 在胶质瘤中显著上调且与肿瘤分级和患者生存密切相关;*HOXA1* (homeobox A1)、*HOXA2* 和 *HOXA3* 在胶质瘤中表达同样增加且与 HOTAIRM1 表达正相关^[8]。

胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)中 HOTAIRM1 呈异常高表达并且其表达水平与 WHO 分级相关;利用小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 下调 HOTAIRM1 表达能够显著抑制肿瘤细胞增殖和迁移侵袭,同时诱导细胞凋亡^[9-11]。目前已知 HOTAIRM1 促进 GBM 恶性生物学行为的途径有 3 条,第一条途径:HOTAIRM1 与下游分子 miR-137 间存在结合位点且 miR-137 能够靶向调控原癌基因 SP1 (specificity protein 1);沉默 miR-137 可以部分逆转 HOTAIRM1 siRNA 对 SP1 表达的抑制作用,即 HOTAIRM1 通过靶向结合 miR-137 进而上调 SP1 的表达来促进 GBM 的进展^[9]。第二条途径:过表达 HOTAIRM1 通过与 miRNA 间的相互作用来海绵吸附 miR-873-5p, 阻断 miR-873-5p 与下游靶基因 *ZEB2* 的 3'-UTR (untranslated region) 结合,从而上调促癌基因 *ZEB2* (zinc finger E-box binding homeobox 2) 的表达^[10]。第三条途径:HOTAIRM1 与甲基转移酶 G9a、EZH2 (enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit) 以及 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, DnmTs) 形成复合物,促使上述 3 种表观遗传修饰物从 *HOXA1* 转录起始位点分离,

抑制组蛋白 H3K9me² 和 H3K27me³ 的去甲基化来激活促癌基因 *HOXA1* 的转录^[11]。

对 3 例星型细胞瘤患者和 3 名健康对照者血清 lncRNA 表达谱进行芯片检测分析筛选出 338 种差异性表达的 lncRNAs (上调 246 种、下调 92 种),其中 HOTAIRM1 表达下调最为显著。ROC (receiver operating characteristic) 曲线分析结果显示血清 HOTAIRM1 表达检测诊断星型细胞瘤的曲线下面积为 0.730,进一步数据分析证实低表达 HOTAIRM1 患者的星形细胞瘤 WHO 分级较低且 3 年总生存率低于高表达组患者。HOTAIRM1 靶基因预测和分析结果提示 HOTAIRM1 可能通过参与 miRNA 生物合成或介导 RNA 调节等信号通路发挥调控作用^[12]。

胶质瘤中 HOTAIRM1 表达增高并与胶质瘤的临床特征(年龄、Karnofsky 评分、WHO 分级、组织病理学等)和分子特征 (PTEN、TP53、MGMR 等)密切相关;多因素 COX 回归分析证明 HOTAIRM1 是评估患者预后的独立危险因素。沉默 HOTAIRM1 可抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化进程 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 同时提高肿瘤对替莫唑胺的敏感性。该研究团队构建由抑癌基因 miR-129-5p、miR-495-3p 及 13 个与肿瘤进展/微环境密切相关的 ceRNA (competing endogenous RNA) 关键基因网络;随后的逆转实验中沉默 HOTAIRM1 后抑制 miR-129-5p、miR-495-3p 仅能恢复一组关键基因的表达,这提示 HOTAIRM1 的作用还能够通过非 ceRNA 途径对关键基因进行调控。此外,过表达 HOTAIRM1 能够增强 T 细胞介导的免疫和炎症反应从而实现免疫激活^[13]。

2 HOTAIRM1 与消化系统肿瘤

30 例肝细胞癌肿瘤组织和癌旁正常组织的定量检测发现肝细胞癌中 HOTAIRM1 表达显著降低且低表达组患者无进展生存期缩短;ROC 分析表明 HOTAIRM1 对肝细胞癌的诊断具有较高敏感性和特异性 ($AUC = 0.7533$, $P = 0.000755$)。过表达 HOTAIRM1 能抑制肿瘤增殖并加速细胞凋亡,并且使促凋亡蛋白 Bax 的表达提高,抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bid 的表达降低。此外,具有促肿瘤恶性生物学行为作用的 Wnt 通路相关蛋白 (Akt1、pGSK-3 β 、 β -catenin) 的表达也出现下降^[14]。

HOTAIRM1 在结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 组织和细胞中表达下调且下调程度在 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 耐药的 CRC 中更为显著。细胞实验发现过表达 HOTAIRM1 能够抑制 5-FU 耐药 CRC 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 并且下调耐药关键基因 MRP1 (multidrug resistance-associated protein 1) 和 MDR1 (multidrug resistance gene 1) 的表达从而降低肿瘤耐药, 外源性沉默 miR-17-5p 则产生相反的效应; 低表达的 HOTAIRM1 能够靶向吸附促癌基因 miR-17-5p 进而下调抑癌基因 BTG3 (BTG anti-proliferation factor 3) 的表达^[15]。

CRC 患者血浆中 HOTAIRM1 水平低于健康对照组; 以 0.003 为 ROC 曲线截断点时 HOTAIRM1 对 CRC 的诊断灵敏度为 64.00% 且特异性为 76.50% ($AUC = 0.780$), 这与癌胚抗原 CEA 性能无显著差异但优于 CA19-9 和 CA125; HOTAIRM1 与 CEA 联合检测可将诊断灵敏度提高到 84.00% 但不改变特异性^[16]。

HOTAIRM1 在胃癌组织和细胞呈下调表达并且与 TNM 分期和淋巴结转移密切相关。上调 HOTAIRM1 与下调 miR-17-5p 均能够抑制肿瘤的增殖和迁移, 同时诱导细胞凋亡发生。双荧光素酶实验证实 HOTAIRM1 和 miR-17-5p、miR-17-5p 和 PTEN 间均存在结合位点, HOTAIRM1 作为 ceRNA 竞争性结合 miR-17-5p 进而上调抑癌基因 PTEN (phosphatase and tensin homolog) 的表达, 并且 HOTAIRM1 与 PTEN 均可通过抑制 PI3K/AKT 通路来负向调控胃癌的发生和发展^[17]。

对 47 例胰腺导管腺癌组织和 5 种细胞系进行定量检测发现: HOTAIRM1 呈明显的异常上调表达且与 KRAS (KRAS proto-oncogene, GTPase) 的突变表达水平正相关。胰腺癌 SW1990 和 PANC-1 细胞中转染 siRNA 沉默 HOTAIRM1 后肿瘤的增殖和迁移侵袭能力受到抑制, 细胞周期被阻滞于 G₀/G₁ 期, 同时凋亡标志物 Bax 和 Bad 表达提高而抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达降低。此外, 低表达 HOTAIRM1 还能够上调 E-cadherin 并下调 N-cadherin 来抑制 EMT 进程^[18]。

3 HOTAIRM1 与其他肿瘤

I 型子宫内膜癌组织中 HOTAIRM1 和 HOXA1

mRNA 的表达明显高于正常子宫内膜组织且 HOXA1 蛋白表达同样增高; HOTAIRM1 的表达与 HOXA1 转录和翻译水平呈正相关。临床病理学资料分析结果显示 HOTAIRM1 和 HOXA1 的表达与 FIGO 分期和淋巴结转移密切相关。体外细胞实验中敲低 HOTAIRM1 表达或沉默 HOXA1 均可显著抑制细胞增殖、迁移、侵袭和 EMT, 而 HOTAIRM1 或 HOXA1 过表达则产生相反作用; 裸鼠异种移植瘤模型中下调 HOTAIRM1 或 HOXA1 均能够减缓移植瘤的生长^[19]。

HOTAIRM1 在非小细胞肺癌表达明显升高且与组织病理学分化程度、肿瘤大小、TNM 分期以及 Ki-67 标记指数显著相关。同时, 利用 Kaplan-Meier 分析总生存率与 HOTAIRM1 表达间的关系, 结果表明: 低表达 HOTAIRM1 患者总生存率更高; 在亚组分析中 HOTAIRM1 表达低的肺腺癌患者、吸烟患者、I 期及 II 期患者总生存率更高, 而肺鳞状细胞癌患者和不吸烟患者的 HOTAIRM1 表达与总生存率间无差异^[20]。

髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 是一种具有免疫抑制功能的未成熟髓系细胞异质性群体, 通过释放 Arg1 (arginase 1) 沉默 T 细胞的免疫应答来实现免疫抑制^[21]。肺癌组织 MDSCs 中的 HOTAIRM1 表达水平降低且 MDSCs 在外周血中占比与 Th1/CTL 比值呈负相关 ($r = 0.5261, P < 0.01$); 过表达 HOTAIRM1 能够减轻 MDSCs 的免疫抑制作用并减少健康供体外周血单核细胞中 MDSCs 的产生。与健康对照组相比肺癌患者外周血细胞中 HOTAIRM1 水平下降, 过表达 HOTAIRM1 能上调 MDSCs 中 HOXA1; HOXA1 的表达水平与 MDSCs 数量和 Arg1 表达呈负相关而与 Th1/CTL 比值呈正相关。上述实验结果提示: HOTAIRM1 通过上调 HOXA1 表达阻断 MDSCs 的免疫抑制, 从而增强机体抗肿瘤免疫反应并延缓肿瘤进展^[22]。

HOTAIRM1 在头颈部肿瘤组织和细胞中表达下调; 过表达 HOTAIRM1 能够抑制肿瘤细胞在体外的增殖、迁移和侵袭并诱导凋亡发生, 同时减缓裸鼠体内肿瘤生长。进一步的机制研究发现 HOTAIRM1 与 miR-148a 间存在结合位点, 二者在表达上呈负相关; 生物信息学分析和双荧光素酶实验结果证实

miR-148a 与下游靶基因 *DLGAP1* 3'-UTR 相结合,上调 HOTAIRM1 可增加抑癌基因 *DLGAP1* (*DLG associated protein 1*) 的表达,即 HOTAIRM1 通过 HOTAIRM1/miR-148a/*DLGAP1* 轴调控人头颈部肿瘤的发生发展^[23]。

肾透明细胞癌中 HOTAIRM1 的特异性剪切体 HM1-3 亚型表达降低,并参与诱导胚胎干细胞的肾系分化;在永生化细胞和肿瘤细胞中 HM1-3 的表达则受到抑制。进一步实验发现在氯化钴诱导 CAKI-1 产生的低氧应激细胞中 HOTAIRM1、HIF1 α (*hypoxia inducible factor 1 alpha*) 蛋白及 HIF1 α 的下游基因 *ANGPTL4* (*angiopoietin like 4*) 表达均下调;常氧条件下利用 siRNA 沉默 CAKI-1 细胞中 HOTAIRM1 后证实 HIF1 α 蛋白及 *ANGPTL4* 表达降低但 HIF1 α

mRNA 无明显改变,这提示 HOTAIRM1 在转录后水平对 HIF1 α 进行调控从而促进低氧通路关键基因 *ANGPTL4* 的表达^[24]。

4 问题与展望

HOTAIRM1 在恶性肿瘤中的调控作用和机制已得到初步揭示,但仍有许多问题尚未得到解决,如 HOTAIRM1 为何会在不同肿瘤中分别呈现促癌和抑癌的作用,其对肿瘤形成过程又有何影响,上述问题仍需要未来更系统的大样本队列分析以及对 HOTAIRM1 上下游分子进行更深层次的实验研究。相信在不久的将来,HOTAIRM1 能作为新型生物标志物与分子治疗靶点为肿瘤患者带来新的希望。

参考文献:

- [1] Mattick JS. Non-coding RNAs: the architects of eukaryotic complexity[J]. *EMBO Rep*, 2001, 2: 986-991.
- [2] Kapranov P, Cheng J, Dike S, *et al.* RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription[J]. *Science*, 2007, 316: 1484-1488.
- [3] 胡涛涛,徐书婉,夏浩明,等. *KCNQ1OT1* 在肿瘤中的表达及意义[J]. *实用药物与临床*, 2019, 22: 1226-1229.
- [4] Xiao Y, Yan X, Yang Y, *et al.* Downregulation of long noncoding RNA HOTAIRM1 variant 1 contributes to osteoarthritis via regulating miR-125b/*BMPR2* axis and activating JNK/MAPK/ERK pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 1569-1577.
- [5] Gharesouran J, Taheri M, Sayad A, *et al.* A novel regulatory function of long non-coding RNAs at different levels of gene expression in multiple sclerosis[J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 67: 434-440.
- [6] Qian C, Li H, Chang DQ, *et al.* Identification of functional lncRNAs in atrial fibrillation by integrative analysis of the lncRNA-mRNA network based on competing endogenous RNAs hypothesis[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 11620-11630.
- [7] 王珊珊,彭小忠,韩为. HOTAIRM1 调节 OCT4 表达维持胶质瘤干细胞的自我更新[J]. *基础医学与临床*, 2019, 39: 792-797.
- [8] Xia HP, Liu YH, Wang ZC, *et al.* Long noncoding RNA HOTAIRM1 maintains tumorigenicity of glioblastoma stem-like cells through regulation of HOX gene expression[J]. *Neurotherapeutics*, 2020, 17: 754-764.
- [9] Hao YF, Li XL, Chen HH, *et al.* Over-expression of long noncoding RNA HOTAIRM1 promotes cell proliferation and invasion in human glioblastoma by up-regulating SP1 via sponging miR-137 [J]. *Neuroreport*, 2020, 31: 109-117.
- [10] Lin YH, Guo L, Yan F, *et al.* Long non-coding RNA HOTAIRM1 promotes proliferation and inhibits apoptosis of glioma cells by regulating the miR-873-5p/ZEB2 axis [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133: 174-182.
- [11] Li Q, Dong CY, Cui JY, *et al.* Over-expressed lncRNA HOTAIRM1 promotes tumor growth and invasion through up-regulating HOXA1 and sequestering G9a/EZH2/Dnmts away from the HOXA1 gene in glioblastoma multi-forme[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37: 265-279.
- [12] 李斌,李娜,刘家东,等. 血清 lncRNA HOTAIRM1 在星型细胞瘤的诊断、预后预测的价值及靶基因预测[J]. *临床神经外科杂志*, 2018, 15: 261-266.

- [13] Liang QY, Li X, Guan GF, *et al.* Long non-coding RNA, HOTAIRM1, promotes glioma malignancy by forming a ceRNA network[J]. *Aging*, 2019, 11: 6805-6838.
- [14] Zhang Y, Mi L, Xuan Y, *et al.* LncRNA HOTAIRM1 inhibits the progression of hepatocellular carcinoma by inhibiting the Wnt signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22: 4861-4868.
- [15] Ren TJ, Hou J, Liu CF, *et al.* The long non-coding RNA HOTAIRM1 suppresses cell progression via sponging endogenous miR-17-5p/B-cell translocation gene 3 (BTC3) axis in 5-fluorouracil resistant colorectal cancer cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117: 109171-109180.
- [16] Wan LD, Kong JL, Tang JL, *et al.* HOTAIRM1 as a potential biomarker for diagnosis of colorectal cancer functions the role in the tumour suppressor[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20: 2036-2044.
- [17] Lu RQ, Zhao G, Yang YL, *et al.* Long noncoding RNA HOTAIRM1 inhibits cell progression by regulating miR-17-5p/PTEN axis in gastric cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120: 4952-4965.
- [18] Luo YY, He YQ, Ye XP, *et al.* High expression of long noncoding RNA HOTAIRM1 is associated with the proliferation and migration in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Pathol Oncol Res*, 2019, 25: 1567-1577.
- [19] Li XL, Pang L, Yang Z, *et al.* LncRNA HOTAIRM1/HOXA1 axis promotes cell proliferation, migration and invasion in endometrial cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 10997-11015.
- [20] Xiong F, Yin H, Zhang H, *et al.* Clinicopathologic features and the prognostic implications of long noncoding RNA HOTAIRM1 in non-small cell lung cancer [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2020, 24: 47-53.
- [21] 李赞, 李勇, 巩平, 等. 髓源性免疫抑制细胞与晚期胃癌化疗疗效及预后的关系 [J]. *基础医学与临床*, 2020, 40: 235-237.
- [22] Tian XY, Ma J, Wang T, *et al.* Long non-coding RNA HOXA transcript antisense RNA myeloid-specific 1-HOXA1 axis downregulates the immunosuppressive activity of myeloid-derived suppressor cells in lung cancer [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 473-484.
- [23] Zheng M, Liu XG, Zhou Q, *et al.* HOTAIRM1 competed endogenously with miR-148a to regulate DLGAP1 in head and neck tumor cells [J]. *Cancer Med*, 2018, 7: 3143-3156.
- [24] Hamilton MJ, Young M, Jang K, *et al.* HOTAIRM1 lncRNA is downregulated in clear cell renal cell carcinoma and inhibits the hypoxia pathway [J]. *Cancer Lett*, 2020, 472: 50-58.