

Functional Mechanism of LncRNA Associated with Oral Squamous Cell Carcinoma

Jingyuan Xiang¹ Jie Wu² Shi Qi^{3*}

1.School of Stomatology, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010050, China

2.Department of Laboratory Medicine, Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, 010010, China

3.Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010050, China

Abstract

Oral squamous cell carcinoma is one of the most common squamous cell carcinoma in the head and neck, its development and development are complex, the main treatments are surgery combined with radiotherapy, neoadjuvant chemotherapy, immunotherapy and targeted therapy, but the incidence rate and mortality rate of oral squamous cell carcinoma have not improved significantly for many years. As a research hotspot in recent years, long-chain noncoding RNA has been confirmed to participate in all stages of tumor development through a variety of ways and molecular mechanisms, and its role in oral squamous cell carcinoma is particularly important. This paper summarizes several main types of long-chain noncoding RNA in oral squamous cell carcinoma, in order to find therapeutic targets and provide new ideas for clinical treatment.

Keywords

oral squamous cell carcinoma; LncRNA; targeted therapy

口腔鳞状细胞癌相关 LncRNA 的功能机制

项敬媛¹ 武杰² 七十^{3*}

1. 内蒙古医科大学口腔医学院, 中国·内蒙古 呼和浩特 010050

2. 内蒙古自治区人民医院检验科, 中国·内蒙古 呼和浩特 010010

3. 内蒙古医科大学附属口腔医院口腔科, 中国·内蒙古 呼和浩特 010050

摘要

口腔鳞状细胞癌是头颈部最常见的鳞状细胞癌之一, 其发生发展过程复杂, 治疗方法主要为手术联合放疗、新辅助化疗、免疫治疗及靶向治疗, 然而多年来口腔鳞状细胞癌的发病率和死亡率并没有明显改善。长链非编码RNA作为近年来的研究热点, 已被证实通过多种途径和分子机制参与了肿瘤发展的各个阶段, 在口腔鳞状细胞癌中的作用也尤为重要。论文对口腔鳞状细胞癌中几类主要的长链非编码RNA进行概述, 以期寻找治疗靶点, 为临床治疗提供新思路至关重要。

关键词

口腔鳞状细胞癌; 长链非编码RNA; 靶向治疗

1 引言

口腔鳞状细胞癌(Oral squamous cell carcinoma, OSCC)是头颈部最常见的鳞状细胞癌之一, 死亡率和发病率均较高, 是全球第六大常见癌症^[1]。根据癌细胞侵袭部位不同,

OSCC 又可分为三大类, 即颊黏膜鳞状细胞癌(Buccal mucosa squamous cell carcinoma, BMSCC)、舌鳞状细胞癌(Tongue squamous cell carcinoma, TSCC)和唇鳞状细胞癌(Lip squamous cell carcinoma, LSCC)。OSCC 的发生发展是一个复杂的多步骤过程, 由于正常的口腔角质形成细胞受到不利因素的影响, 如吸烟和饮酒, 细胞内微环境失衡且基因发生改变。目前, 尽管有大量关于 OSCC 的手术、放疗、化疗及联合治疗的报告, 但 OSCC 的发病率和死亡率并没有明显改善, 5 年生存率仍处于 50% 左右^[2]。此外, 手术切除后的复发也成为癌症相关死亡的主要原因, 这使得我们在治疗方案的选择上转换思路, 考虑更为“精准”的分子靶向治疗。

长链非编码 RNA(Long non-coding RNA, LncRNA)是

【基金项目】内蒙古自治区自然科学基金(项目编号: 2019LH08016)。

【作者简介】项敬媛(1996-), 女, 中国内蒙古鄂尔多斯人, 硕士, 从事口腔颌面外科方面研究。

【通讯作者】七十(1972-), 男, 蒙古族, 中国内蒙古赤峰人, 博士后, 主任医师, 从事口腔颌面外科方面研究。

一种长度超过 200nt 的内源性 RNA，没有或具有有限的蛋白质编码能力，参与许多重要的生理和病理过程，如细胞增殖，凋亡，分化。lncRNAs 通过染色质修饰、基因的转录调控和 RNA 的剪切修饰等方式起到基因表达的调节作用，进而参与真核生物体内组织器官形成等生命活动，并与肿瘤组织的发生和发展密切相关。已有研究表明，lncRNA 通过多种途径和分子机制参与了肿瘤发展的各个阶段，对肿瘤的诊断和治疗起着至关重要的作用。lncRNA 的种类和表达量在不同癌症类型和不同分期中存在差异，其调控机制也不尽相同。因此，lncRNA 有望成为 OSCC 分子治疗的靶点，而研究 OSCC 中不同 lncRNA 的生物学功能和作用机制已成为当今 OSCC 诊疗领域的研究热点。论文通过对 MALAT1、结肠癌相关转录物 1 (CCAT1)、MEG3、尿路上皮癌相关基因 1 (UCA1)、HOTAIR、FOXC1、Linc-RoR 等 lncRNA 的功能和作用机制进行综述，旨在为 OSCC 的靶向治疗提供参考。

2 lncRNA 的结构与功能

真核细胞中存在着一类不编码蛋白质但有重要生物学功能的 RNA 分子，称为非编码 RNA (Non-coding RNA, ncRNA)。根据分子片段大小，ncRNA 分为小于 200nt 的短链非编码 RNA (Small non-coding RNA, sncRNA) 和大于 200nt 的长链非编码 RNA (lncRNA)。lncRNA 数量多、分子量大，大多数是由 RNA 聚合酶 II 合成的，具有 mRNAs 的许多生物学特性。lncRNAs 的核苷酸序列构成其一级结构。lncRNA 的二级结构主要由氢键维持，包含双螺旋、发夹环和茎环，对 lncRNA 的生物学功能具有重要意义。lncRNA 根据与编码基因的位置可分为基因间 lncRNA、内含子 lncRNA、正义 lncRNA、反义 lncRNA、和双向 lncRNA^[3]。lncRNA 可以直接调节靶基因的转录翻译，也可以通过碱基互补配对与靶基因结合来间接调节靶基因的转录翻译^[4]。随着对 lncRNAs 结构和功能的不断探索和阐明，过去被认为转录噪声的 lncRNAs 现已成为癌症发展中不可忽视的调节因素。

3 lncRNA 在 OSCC 中的功能和作用机制

3.1 转移相关肺腺癌转录因子 1 (MALAT1)

转移相关肺腺癌转录因子 1 (MALAT1) 定位于人类染色体 11q13，最初被确定为非小细胞肺癌转移和患者生存的预后标志物。因其三螺旋结构而具有独特的稳定性，MALAT1 可能与 SR (富含丝氨酸/精氨酸) 剪接因子 (包括 SRSF1、2 和 3) 相互作用，参与外显子识别和选择性剪接，也参与转录和转录后调控。研究表明，E2F1 转录因子影响细胞周期调节和细胞凋亡，而 MALAT1 通过调节 E2F1 转录因子的活性促进细胞增殖，进而促进肿瘤的发生。同时，MALAT1 的缺失影响癌基因转录因子 B-MYB (mybl2) 的活性，阻断 G1/S 期的细胞周期，从而降低细胞增殖。这些研究表明 MALAT1

发挥了作用一系列生物过程中的重要功能。据文献报道，在 OSCC 的发生发展中，上皮-间质转化 (EMT) 是形态发生过程中不可缺少的机制，EMT 可能激活 PI3K-AKT/PKB 信号通路参与 OSCC 淋巴结转移^[5]。当细胞中 MALAT1 下调或缺失时，EMT 介导的细胞迁移和侵袭就受到抑制。也有文献表明，MALAT1 可增强细胞内 β -catenin、NF- κ B 和 STAT3 等炎症信号通路的作用，有助于肿瘤的生成和转移。总之，对于 MALAT1 的全面了解还需要更深入的研究，而现有的研究表明 MALAT1 是 OSCC 重要的治疗靶点。

3.2 结肠癌相关转录物 1 (CCAT1)

结肠癌相关转录物 1 (CCAT1) 也称为癌症相关区域 lncRNA-5 (CARLo-5) 或 CCAT1-S，包含 2628 个核苷酸，位于染色体 8q24.21。CCAT1 与致癌转录因子 c-Myc 密切相关，可通过 miR-155 上的竞争的内源性 RNA (ceRNA) 调节 c-Myc 过度表达，导致细胞增殖和侵袭增强。CCAT1 在多种癌症中高表达，如胆囊癌、胃癌、肺癌、头和颈鳞状细胞癌等。Arunkumar^[6]等通过对 60 例 OSCC 与 8 例正常的样本进行比较发现，OSCC 中 CCAT1 存在高表达并且与 miR155-5p、let7b-5p、MiR218-5p 和 miR490-3p 的下调有关。最近一项研究也表明，与正常口腔上皮细胞相比，CCAT1 表达在 OSCC 细胞中显著升高；同时，下调的 CCAT1 通过抑制细胞活力、减少集落数和阻碍细胞周期来抑制细胞增殖。此外，CCAT1 沉默减弱了 TCA-8113 细胞的迁移和侵袭。CCAT1 的这些生物作用都是通过抑制酪氨酸激酶盘状结构域受体 (DDR) 使 ERK/AKT 通路失活来完成的，而 DDR 与细胞内多种信号通路有关，并且 DDR 在人类恶性肿瘤 (包括口腔鳞状细胞癌) 中表达上调^[7]。这表明 CCAT1 可能成为 OSCC 肿瘤发生的潜在生物标志物和治疗靶点。

3.3 MEG3

MEG3 (Maternally expressed 3) 是第一个被发现具有肿瘤抑制作用的 lncRNA，由两个不同的甲基化区域 (DMR) 即 IG-DMR 和 MEG3-DMR 所控制，具有多种生物学功能，参与多种疾病的发生。研究表明，MEG3 可导致内皮细胞衰老，干扰再生血管生成^[8]。已有研究表明 MEG3 具有与 miRNAs 相互作用影响肿瘤发生的能力，在多种肿瘤细胞中表达较低。在乳腺癌中，MEG3 下调 miR-421 的表达以抑制 EMT 的进展；在胶质瘤中，MEG3 下调 miR-19a 并抑制细胞的侵袭性行为^[9]。同时，MEG3 在 TSCC 组织中的低表达与患者的总体低生存率相关，通过 miR-26a 对 MEG3 上调限制了肿瘤的进展。

近年来，MEG3 在口腔鳞癌中的作用也逐渐被认知。国内学者 Liu^[10]等研究发现相比正常细胞，MEG3 表达量在 OSCC 细胞中显著降低，MEG3 可通过抑制 WNT/ β -catenin 信号通路来抑制 SCC15 和 Cal27 细胞的增殖和转移并促进细胞凋亡。最近另有学者通过体内和体外实验表明，MEG3 抑制 miR-548d-3p 的表达以促进 SOCS5 和 SOCS6 的表达，从而调节 JAK-STAT 信号通路并在 OSCC 细胞中作为肿瘤抑制

因子发挥作用^[11]。可见, 尽管 MEG3 在 OSCC 中发挥的作用不同, 但随着人们对 MEG3 作用机制的认识, 其有望成为重要的治疗靶点。

3.4 尿路上皮癌相关基因 1 (UCA1)

尿路上皮癌相关基因 1 位于染色体 19p13.12 上, 最初在膀胱癌中被发现, 后来在胆管癌, 胃癌, 前列腺癌等恶性肿瘤中发现 UCA1 表达水平显著增加, 通过调节肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭来促进肿瘤的发展^[12]。此外, Duan^[13] 等研究发现, 与邻近的非肿瘤组织相比, OSCC 中 UCA1 和肌球蛋白 VI (MYO6) 的水平显著增加, 而 miR-143-3p 的水平降低; UCA1 在体外和体内促进 OSCC 细胞生长、迁移和侵袭, 而 miR-143-3p 则逆转了肿瘤的进展; MYO6 被验证为 miR-143-3p 的靶标, MYO6 过表达逆转了 miR-143-3p 对 OSCC 细胞的影响。MYO6 是肌球蛋白超家族的一员, 在各种生物体和组织中广泛表达, 同时 MYO6 可作为人类癌症的致癌基因, 促进前列腺癌、结直肠癌和胃癌的生长并抑制细胞凋亡^[14]。最终该实验得出结论, LncRNA UCA1 通过靶向抑制 miR-143-3p 上调其下游基因 MYO6, 促进 OSCC 细胞的增殖和转移。

然而, UCA1 不仅促进肿瘤的生长, 也可以增加 OSCC 细胞对抗癌药物 (如顺铂) 的耐药性。Fang^[15] 等的实验发现 LncRNA UCA1 通过抑制 miR-184 表达促进 Tca8113 和 TSCCA 口腔鳞状细胞癌增殖, 而被抑制的 miR-184 通过直接靶向 OSCC 细胞顺铂抗性的 SF1 的 3'UTR 区域减弱了下调 SF1 的表达的作用, 进而表现出 UCA1 增强了 OSCC 细胞对顺铂的耐药性。这些研究都表明 UCA1 可以作为治疗 OSCC 的一种新型靶向疗法。

3.5 HOTAIR (HOX transcript antisense RNA)

HOX 转录反义 RNA (HOTAIR) 的异常表达首先在乳腺癌组织中, 并且在食管癌、结肠癌、肝癌和胰腺癌中陆续被发现, 与肿瘤患者的不良预后密切相关。值得注意的是, HOTAIR 基因多态性与口腔癌的风险有关, HOTAIR 在口腔鳞癌中表达上调且可提高口腔鳞癌细胞对顺铂的敏感性。Tao 等分析了 HOTAIR 表达量与 OSCC 患者临床病理特征之间的关系, 结果显示与邻近的正常黏膜相比, 肿瘤组织 HOTAIR 表达量更高, HOTAIR 水平与原发肿瘤大小、区域淋巴结状态、TNM 分期和组织学分级呈正相关; 单变量分析显示, 高 HOTAIR 的表达与原发肿瘤大小、淋巴结转移、TNM 分期和肿瘤分化显著相关^[16]。接着 Tao 等运用双荧光素酶实验证实 HOTAIR 作为一种竞争性内源性 RNA 有效抑制 miR-326 而促进 OSCC 的迁移、侵袭、EMT 的形成和转移相关基因 2 (MTA2) 表达增加。转移相关基因 (MTA) 是新近发现的一个肿瘤进展相关基因家族, 包括 MTA1、MTA2、MTA3 三个成员。MTA2 是 MTA 家族的重要成员, 包含参与组蛋白去乙酰化的转录抑制因子, 并被证实促进 EMT 和多发癌的进展, MTA2 的敲除可以抑制多种癌症的侵袭和转移。也就是

说 HOTAIR 可通过 miRNA-326-MTA2 途径促进 OSCC 的侵袭和转移。

此外, 中国有学者发现 HOTAIR 可与 miR-206 竞争性结合, 从而刺激 STC2 (参与钙和磷酸盐的动态平衡, 其表达量已在转移性癌症中得到广泛测定) 表达, 激活 PI3K/AKT 信号通路, 最终增加了头颈部鳞状细胞癌生长、增殖、迁移和侵袭。

3.6 FOXC1

Forkhead box protein C1 (FOXC1) 属于 FOX 转录因子家族, 过去研究证明 FOXC1 作为癌基因在多种癌症类型中的作用有以下几种:

①肺癌: FOXC1 促进肺癌细胞的增殖、迁移、侵袭、血管生成和上皮间质转化^[17]。

②宫颈癌: FOXC1 在宫颈癌中高表达并且与患者的临床分期、高度恶性和不良预后显著相关, 而敲除 FOXC1 可抑制细胞生长并诱导细胞凋亡^[18]。

③在鼻咽癌 (NPC) 中, FOXC1 表达上调并与 NPC 患者的淋巴结转移、远处转移和晚期临床分期呈正相关, FOXC1 的敲低也抑制了 NPC 细胞的迁移和侵袭能力。

然而, FOXC1 对参与调节 OSCC 发生和发展的潜在机制研究相对较少。Lin^[19] 等收集了 27 个 OSCC 组织样本和 15 个正常组织样本, 通过一系列体外实验发现 FOXC1 在 OSCC 组织中高表达, 降低 FOXC1 表达可抑制细胞增殖和降低 OSCC 细胞中的细胞周期蛋白 B1 和细胞周期蛋白 D1 的表达水平, 抑制细胞生长和集落形成。与对照细胞相比, 敲低 FOXC1 使 OSCC 细胞迁移减少, 且伴随着基质金属蛋白酶 (MMP)-2 和 MMP-9 的下调。可见, FOXC1 的敲低抑制了 OSCC 中细胞周期蛋白 B1、细胞周期蛋白 D1、MMP-2 和 MMP-9 的表达, FOXC1 在 OSCC 细胞中起到致癌基因的作用, 是治疗 OSCC 的潜在治疗靶点。然而, 需要更多的研究来了解 FOXC1 介导的 OSCC 形成和预后调节的机制。

3.7 Linc-RoR

长基因间非编码 RNA 重编程调节器 (LINC-RoR) 位于 18q21.31, 在肿瘤生长调节多能干细胞重编程中起重要作用。Arunkumar 等人在 60 例 OSCC 病例中, 观察到 LINC-RoR 在未分化肿瘤样本中过度表达, 且伴随 miR-145-5p 的显著下调和转录因子 Klf4 的上调。这些结果表明 LINC-RoR 和 TUG1 过表达可能协同控制 miR-145 功能, 导致调节细胞分化的多能转录因子上调。LINC-RoR 的其他潜在机制功能涉及 p53。Linc-RoR 作为 ceRNA 作用于海绵 miR-145, 允许 Oct4、Nanog 和 Sox2 等在人类胚胎干细胞中表达, 除了 ceRNA, linc RoR 还通过与异质核糖核蛋白 I (hnRNP I) 相互作用抑制其在细胞质中的翻译, 从而负性调节 p53。

4 结论

OSCC 患者的治疗方法复杂, 临床疗效不理想。OSCC

发病机制的研究进展迫切需要开发新的治疗方法。近年来,许多研究集中于 lncRNAs 在 OSCC 中的功能,发现它们在 OSCC 进展中发挥着重要作用^[20]。论文针对几类在 OSCC 中具有显著作用的 lncRNAs 进行概述,发现 lncRNAs 可通过影响细胞迁移和侵袭、抑制细胞周期蛋白 D1、MMP-2 和 MMP-9,使 ERK/AKT 通路失活、抑制 WNT/ β -catenin 信号通路、靶向抑制 miR-143-3p 及 miR-184 等方式作用于 OSCC 疾病进展。随着越来越多的 lncRNAs 在 OSCC 中被发现,其作用机制及对预后的影响也越来越重要,进一步研究 OSCC 放疗分子机制,探索潜在的靶点,并引申于临床治疗具有重要意义。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics,2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019,69(1):7-34.
- [2] Wang H, Wang B, Wei J, et al. Molecular mechanisms underlying increased radiosensitivity in human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma[J]. Int J Biol Sci, 2020,16(6):1035-1043.
- [3] Smith J E, Alvarez-D, Kline N, et al. Translation of small open reading frames within unannotated RNA transcripts in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Cell Rep, 2014,7(6):1858-1866.
- [4] Sun Q, Hao Q, Prasanth K V. Nuclear Long Noncoding RNAs: Key Regulators of Gene Expression[J]. Trends in Genetics Tg, 2018,34(2):142-157.
- [5] Zidar N, Boštjančič E, Malgaj M, et al. The role of epithelial-mesenchymal transition in squamous cell carcinoma of the oral cavity[J]. Virchows Arch, 2018,472(2):237-245.
- [6] Arunkumar G, Murugan A K, Prasanna S R H, et al. Long non-coding RNA CCAT1 is overexpressed in oral squamous cell carcinomas and predicts poor prognosis[J]. Biomed Rep, 2017,6(4):455-462.
- [7] Velmurugan B K, Chang W, Chung Chia-Min, et al. DDR2 overexpression in oral squamous cell carcinoma is associated to lymph node metastasis[J]. Cancer Biomark, 2018,22(4):747-753.
- [8] Boon R A, Hofmann P, Michalik K M, et al. Long Noncoding RNA Meg3 Controls Endothelial Cell Aging and Function: Implications for Regenerative Angiogenesis[J]. J Am Coll Cardiol, 2016,68(23):2589-2591.
- [9] Qin N, Tong G, Sun L, et al. Long Noncoding RNA MEG3 Suppresses Glioma Cell Proliferation, Migration, and Invasion by Acting as a Competing Endogenous RNA of miR-19a[J]. Oncol Res, 2017,25(9):1471-1478.
- [10] Liu Z, Wu C, Xie N, et al. Long non-coding RNA MEG3 inhibits the proliferation and metastasis of oral squamous cell carcinoma by regulating the WNT/ β -catenin signaling pathway[J]. Oncol Lett, 2017,14(4):4053-4058.
- [11] Tan J, Xiang L, Xu G. LncRNA MEG3 suppresses migration and promotes apoptosis by sponging miR-548d-3p to modulate JAK-STAT pathway in oral squamous cell carcinoma[J]. IUBMB Life, 2019,71(7):882-890.
- [12] Kong L, Wu Q, Zhao L, et al. CLIC1Upregulated lncRNA-UCA1 contributes to metastasis of bile duct carcinoma through regulation of miR-122/ and activation of the ERK/MAPK signaling pathway[J]. Cell Cycle, 2019,18(11):1212-1228.
- [13] Duan Q, Xu M, Wu M, et al. Long noncoding RNA UCA1 promotes cell growth, migration, and invasion by targeting miR-143-3p in oral squamous cell carcinoma[J]. Cancer Med, 2020,9(9):3115-3129.
- [14] Yang Q. MicroRNA-5195-3p plays a suppressive role in cell proliferation, migration and invasion by targeting MYO6 in human non-small cell lung cancer[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2019,83(2):212-220.
- [15] Fang Z, Zhao J, Xie W, et al. LncRNA UCA1 promotes proliferation and cisplatin resistance of oral squamous cell carcinoma by sunppressing miR-184 expression[J]. Cancer Med, 2017,6(12):2897-2908.
- [16] Tao D, Zhang Z, Liu Xue, et al. LncRNA HOTAIR promotes the invasion and metastasis of oral squamous cell carcinoma through metastasis-associated gene 2[J]. Mol Carcinog, 2020,59(4):353-364.
- [17] Lin Y, Shyu W, Chang C, et al. Tumor Hypoxia Regulates Forkhead Box C1 to Promote Lung Cancer Progression[J]. Theranostics, 2017,7(5):1177-1191.
- [18] Wang L, Chai L, Ji Q, et al. Forkhead box protein C1 promotes cell proliferation and invasion in human cervical cancer[J]. Mol Med Rep, 2018,17(3):4392-4398.
- [19] Liu Z, Xu S, Chu H, et al. Silencing FOXC1 inhibits growth and migration of human oral squamous cell carcinoma cells[J]. Exp Ther Med, 2018,16(4):3369-3376.
- [20] Feng L, Chen W T, Qiu W L. Long non-coding RNAs associated with oral squamous cell carcinoma[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019,23(20):8888-8896.