

核仁小分子RNAs与癌症的研究进展

丁翠玲, 王鹏, 王文

Recent Progress in Small Nucleolar RNAs and Cancer

DING Cuiling, WANG Peng, WANG Wen

Department of Microbiology, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China



Abstract: Small nucleolar RNAs (snoRNAs) is one kind of small non-coding RNAs, which is widely distributed in the nucleoli of eukaryotic nucleus. In recent years, more and more studies have proved that disorders of snoRNAs are related to cancer. snoRNAs may be involved in the occurrence and development of cancer, as suppressor genes or proto-oncogenes. Besides, snoRNAs-related imprinting genes, human telomerase and ribosomopathies could consequently contribute to carcinogenesis. In addition, snoRNAs have potential application in the diagnosis and therapy of cancer. This article briefly reviews recent research progress in the features of snoRNAs and their potential application in cancer diagnosis and therapy.

Key words: Small nucleolar RNAs; Cancer; Cancer diagnosis and therapy

摘要: 核仁小分子RNAs (small nucleolar RNAs, snoRNAs) 是一类小分子非编码RNA, 其广泛分布于真核生物的细胞核核仁中。近年来, 越来越多的研究证明snoRNAs的失调与癌症相关。snoRNAs可能作为抑制基因或原癌基因参与到癌症发生与发展的过程中。并且, snoRNAs相关的基因印记、人端粒末端转移酶以及核糖体病变也被发现与癌症的发生有关。另外, snoRNAs在癌症的诊断与治疗中具有潜在的应用。本文简要总结了snoRNAs的新功能以及snoRNAs在癌症诊断与治疗中潜在应用的研究进展。

关键词: 核仁小分子RNAs; 癌症; 癌症诊断与治疗

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A

0 引言

癌症是由细胞生长与死亡的紊乱调控引起的, 并以蛋白编码基因的功能来维持^[1]。因此, 长久以来, 蛋白质编码基因一直被认为是癌症发生与发展过程中最重要的调控因子。然而, 人类基因组中90%的非蛋白质编码DNA是被转录的^[2-4]。这些转录体包括小分子非编码RNA以及长链非编码RNA。小分子非编码RNA主要分为以下几类: microRNA、snoRNA (small nucleolar RNA)、siRNA (small interfering RNA)、piwi-associated RNA、scaRNA以及snRNA (small nuclear RNAs)^[5]。尽管它们的长度范围只有18~300个核苷酸, 但是小分子非编码RNA在各个生理调控过程 (如细胞增殖、生理调控以及肿瘤发生) 中发挥重要作用^[6-7]。

近年来, 研究发现核仁小分子RNA (snoRNAs) 以及snoRNAs的失调在癌症的发生与发展过程中发挥重要作用。snoRNAs在癌症发生中作用的研究可以为发现潜在的癌症生物标志物

以及治疗靶标提供研究支持^[8]。该综述将主要讨论snoRNAs的新功能以及snoRNAs在癌症诊断与治疗中的潜在应用。

1 snoRNAs的结构分类与作用机制

1.1 snoRNAs的结构分类

snoRNAs的长度范围在60~300个核苷酸之间。目前在哺乳动物中, 已经鉴定了至少200种snoRNAs^[8]。snoRNAs主要分为两大类: box C/D snoRNAs与box H/ACA snoRNAs^[9-10]。在脊椎动物中, 大部分snoRNAs位于蛋白质编码基因的内含子并通过RNA聚合酶II进行转录。此外, 一些snoRNAs也可以由长链非编码RNA的内含子编码^[11-12]。当snoRNAs从内含子中释放出来后, 会通过核酸外切酶的活性从两端去除多余的核苷酸。在box C, D或者H, ACA中的信号序列会介导蛋白质中相互作用部分的结合, 形成功能性的snoRNP复合物。Box C/D snoRNAs与四种进化稳定的蛋白质 (fibrillarin, Nop56p, Nop58p, 15.5KDa) 结合形成功能性的snoRNP。而box H/ACA snoRNAs 则与dyskerin, Gar1p, Nhp2p, Nop10p相结合形成功能性的snoRNP。

收稿日期: 2013-12-30; 修回日期: 2014-03-13

作者单位: 200433 上海, 第二军医大学微生物教研室

作者简介: 丁翠玲 (1990-), 女, 硕士在读, 主要从事肝细胞癌生物标志物的相关研究

1.2 snoRNAs的基本作用机制

snoRNAs有两种基本的作用机制: rRNA的2'-O-甲基化以及rRNA的假尿苷化。rRNA的2'-O-甲基化是由box C/D snoRNAs家族介导的。Box C/D snoRNAs两端4~5个核苷酸形成一个末端的“柄-盒”结构, 该结构是snoRNAs的生物合成以及在核仁内的定位所必需的。在snoRNAs中间部分, 保守的box C, C', D, D'片段与RNA蛋白相互作用, 以介导snoRNP复合物的形成。Box D或D'片段上游有1~2个基序, 与底物RNA的特定位点特异性互补, 从而进行合适的校准以及特定核苷酸的甲基化。snoRNAs介导snoRNP复合物到达合适的rRNA位置后, 甲基化转移酶—fibrillarin, 催化甲基化反应。另一方面, rRNA假尿苷化是由box H/ACA snoRNAs家族完成的。Box H/ACA snoRNAs具有两个发夹结构, 形成一个“发夹-铰链-发夹-尾”的二级结构。H box位于铰链区域, ACA box则位于尾部, 引导snoRNAs与目的rRNA结合的序列位于发夹结构区域。在snoRNP定位到特定的位点后, rRNA的尿苷酸会定位到“柄”的上部, 然后通过假尿苷合成酶—dyskerin完成该位点的修饰^[13]。

2 snoRNAs在癌症发生发展过程中的作用

2.1 癌症中发挥肿瘤抑制子作用的snoRNA

Chang等^[14]第一次报道snoRNAs与癌症相关。他们发现与正常脑组织相比, 在人类脑膜瘤中h5sn2 (一种box H/ACA snoRNAs) 明显下调。HBII-52 (一种脑特异性的box C/D snoRNAs) 能够通过调控五羟色胺受体2C的可变剪切来调控该受体的表达, 进而促进帕魏二氏综合征 (Prader-Willi syndrome, PWS) 的发生^[15]。利用缺失定位法分析30例前列腺癌样本, Dong等^[16]将肿瘤抑制子定位到6q14-15的2.5Mb区域, 并对该小范围的缺失区域内的4个基因 (蛋白基因: LOC441164, NT5E, SYNCRIP以及snoRNAs: U50) 进行了后续实验。在临床的样本中发现了snoRNA U50的缺失, 并得到了功能性实验的证实。该2 bp纯合子的缺失使snoRNA U50不能再抑制前列腺癌细胞克隆的形成。与前列腺癌中的研究发现类似, 在乳腺癌、B细胞淋巴瘤以及结肠癌中均发现了snoRNA U50的下调^[16-18]。所以, snoRNA U50可能是一个肿瘤抑制基因。然而, snoRNAs的下调抑制细胞生存、增殖以及抑制癌症发生的机制还需要继续研究。

2.2 癌症中发挥原癌基因作用的snoRNA

与编码蛋白质的原癌基因类似, 一些snoRNAs也还可以通过促进细胞内的信号途径, 从而促进肿

瘤的发生。snoRNA42 (一种box H/ACA snoRNAs) 是肺癌组织中最常见的过表达snoRNAs之一。SnoRNA42位于一号染色体1q22, 该区域在多种实体瘤中是常见的基因扩增区。所以, snoRNA42和它的宿主基因KIAA0907可能是基因扩增的主要靶标。而snoRNA42在所有的癌症细胞系中呈现了与基因组扩增倍数相当的高表达, KIAA0907却没有。所以, snoRNA42的高表达可能是由于基因组扩增引起的^[19]。而且, snoRNA42的下调可以抑制癌症细胞的生长和增殖, 这为snoRNA42在肺的肿瘤发生中作为原癌基因提供了证据。Liao等^[20]对非小细胞肺癌 (non-small-cell lung cancer, NSCLC) 组织以及配对的非肺癌组织的ncRNAs表达谱分析发现, 与正常肺组织相比, 有6种snoRNAs在肺癌组织中表达明显升高。这些数据提示snoRNAs的变化可能与肺癌的发生相关^[19]。

2.3 癌症中的印记snoRNA

印记基因的缺失及其相关基因的表达失调是癌症发生的主要特点。研究发现印迹snoRNAs与特定的癌症相关。Donsante等^[21]发现正常小鼠与患有黏多糖增多症的小鼠在注射能够表达 β -葡糖苷酸酶的AAV (adeno-associated viral) 载体后, 会患肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)。AAV-HCC位点位于12号染色体, 12号染色体有多个印迹基因, 包括Rian基因。Rian基因至少编码9个印迹snoRNAs。而Rian基因编码的印迹snoRNAs在肿瘤组织中会有9~539倍的上调表达。所以, 载体插入的原癌基因效应是由snoRNAs的过表达引起的。MEG3是一个母本印迹基因, 具有肿瘤抑制活性。MEG3内含有多个snoRNAs, 包括snoRD112、snoRD113和snoRD114, 以及肿瘤抑制子miRNA。其低表达可以通过P53依赖以及P53非依赖途径来抑制肿瘤细胞的增殖^[22]。MEG8也是一个印迹基因, 其为一种长链非编码RNA。MEG8的失调与多种疾病相关, 如帕魏二氏综合征。与MEG3类似, MEG8包含两种内含子snoRNAs的重复序列: snoRD113 (9 copies) 和snoRD114 (31 copies) ^[23]。综上所述, 印迹的snoRNAs癌症的发生过程中可能发挥重要作用。对印迹snoRNAs在癌症发生与发展过程中具体的生物功能更好地了解以及确定snoRNAs是否独立发挥功能是非常必要的。

2.4 癌症中人端粒末端转移酶 (human telomerase RNA, hTR) 相关的H/ACA snoRNA

hTR具有H/ACA box snoRNAs的特征, 其位于细胞核的螺线体内。端粒末端转移酶是一种反转录酶, 有其自身的RNA分子^[24]。hTR的H/ACA

区域负责pre-snoRNAs的形成以及端粒酶RNP在细胞核内的定位。H/ACA snoRNP与人类端粒酶相嵌合,与X染色体连锁的角化不良症(dyskeratosis congenita, DKC)的基因紊乱相关。DKC患者易患多种癌症,包括血液恶性肿瘤、黑色素瘤、前列腺癌以及乳腺癌^[25-26]。而snoRNP和rRNA蛋白成分的失调,会影响DKC模式生物的表型。在一种突变型的斑马鱼中,Nop10(box H/ACA snoRNP的一种蛋白)的表达不足,引起核糖体蛋白调控的P53稳定性改变,使其不能产生血液干细胞^[27]。因此,hTR相关的H/ACA snoRNP的失调在癌症的发生与发展过程中可能发挥重要作用。

2.5 癌症中snoRNA相关的核糖体病变

snoRNP复合物中的snoRNAs在核糖体准确有效的形成过程中是非常必要的。在假尿苷酸化snoRNP肽基转移酶缺失的细胞中,核糖体的结构或活性往往会发生改变。Nopp140转录本缺失会引起果蝇幼虫和蛹的死亡,细胞核结构的断裂和一些褪黑色素肿瘤的发生,也会导致果蝇的翅膀、腿以及背甲缺损^[28]。在人类中,Nopp140的等位基因TCOF1的缺失,会引起Treacher-Collins综合征^[29]。核糖体生物合成的失调以及相关的核糖体病理发生被证明与多种癌症相关。Su等^[30]发现,在小鼠以及人乳腺癌与前列腺癌细胞中,fibrillarin(FBL)表达明显上调。高水平的FBL通过干扰肿瘤抑制子P53的激活调控核糖体的生物合成,并通过增强PTB-依赖,cap-非依赖的翻译途径,促进肿瘤的发生。并有研究发现,GRIM可以抑制snoRNP的合成,从而降低成熟rRNA的形成,进而抑制细胞的生长^[31]。此外,在转移的黑色素瘤细胞中,核仁Nop5/Sik的高表达会通过影响核仁的功能影响核糖体的生物合成^[32]。Michel等^[33]认为60S的核糖体蛋白rpL13a基因是棕榈酸盐诱导的代谢应激和细胞死亡的重要因子。其启动子的突变会影响rpL13编码C/D box snoRNAs(U32a、U33和U35a)。而U32a、U33和U35a的敲低可以保护细胞免受棕榈酸盐诱导的代谢应激和细胞死亡。该保护效应是独立于box C/D snoRNAs的基本功能靶标rRNA的2'-O-核糖甲基化的。总而言之,snoRNAs相关的核糖体病变可能会促进癌症的发生。

2.6 癌症相关的snoRNA宿主基因

Mourtada-Maarabouni等^[34]发现,与正常乳腺上皮细胞相比,在乳腺肿瘤细胞中可调控哺乳动物细胞凋亡与增殖的GAS5(GAS5无蛋白质编码功能,但其内含子能够编码9种box C/D snoRNAs)的转录水平明显降低,提示snoRNAs组成一个新

的基因家族,可以调控肿瘤生成以及乳腺癌治疗的敏感度。Zfas1,一种长链非编码RNA,可编码三种snoRNA(SNORD12、SNORD12B以及SNORD12C)^[35]。Askarian-Amiri等^[36]发现ZFAS1可调控乳房的发育,并且在乳腺癌组织中明显下调。另外,在小鼠的乳腺细胞系中,敲低Zfas1 mRNA的表达(同时,其编码的snoRNA也明显下调)会促进细胞的增殖与生长。以上研究结果提示,snoRNA的宿主基因可能在维持细胞的内环境稳定以及癌症的发生发展中发挥重要作用。

3 snoRNAs在癌症诊断与治疗中的潜在应用

snoRNAs在不同的细胞活动中发挥重要作用,而且不同癌症具有不同的特异snoRNAs表达谱。很多研究者发现在血浆以及血清样本中,snoRNAs具有稳定的表达形式并且是稳定可测的。因此,snoRNAs可以作为癌症潜在的血液生物标志物。研究人员^[21]利用3种血浆snoRNAs(snoRD33、snoRD66和snoRD76)将NSCLC患者与健康者分开,敏感度可达到81.1%以及特异性可达到95.8%。因此,检测血浆snoRNAs可作为潜在的非侵袭性途径以改善NSCLC的诊断。Gee等^[37]在两个患者队列(219为乳腺癌患者与46位头颈鳞状细胞癌患者)中将4种snoRNAs(RNU44、RNU48、RNU43和RNU6B)作为内在的对照基因来分析癌症相关的miRNA,发现RNU43,RNU44和RNU48在肿瘤组织中的低表达与癌症患者不良预后密切相关。所以,snoRNAs可作为恶性肿瘤诊断和判断预后的潜在生物标志物。snoRNAs也许可以与miRNA、蛋白质编码基因共同运用于癌症的诊断和预后的判断,以达到更高的准确性^[8]。

尽管对snoRNAs在肿瘤发生中的分子作用机制的了解还十分有限,但是snoRNAs的一些特征使它们可能作为介入治疗的理想候选物。例如,能够调控转录后基因沉默的snoRNAs在治疗中可能具有重要意义。如snoRNA42在肺癌组织样本中是明显高表达的。Mannoor等^[8]构建了以siRNA为基础的系统来探索snoRNA42在肿瘤中特异性的表达,在肺癌细胞系中进行了检测,并且在体外与体内试验中均抑制了肿瘤的生成。这些发现为潜在snoRNAs介导的治疗提供了重要的依据。

4 展望

snoRNAs在细胞的增殖、分化以及存活的过程中是非常重要的调控因子,其功能的紊乱与癌症的发生和发展密切相关,对于其在癌症发生

中作用机制的研究是非常必要的。对于不同癌症中snoRNAs特异表达谱的研究, 不仅会发现肿瘤诊断和预后的新型标志物, 也可能会为最终治愈癌症提供有效的治疗策略。虽然已有许多研究致力于snoRNAs分子在癌症发生与发展过程中的作用, 但其具体调控机制仍未阐明, 仍有待更深入的探究。

参考文献:

- [1] Croce CM. Oncogenes and cancer[J]. N Engl J Med, 2008, 358(5): 502-11.
- [2] Stein LD. Human genome: end of the beginning[J]. Nature, 2004, 431(7011): 915-6.
- [3] Pennisi E. Human genome. A low number wins the GeneSweep Pool[J]. Science, 2003, 300(5625): 1484.
- [4] Cheng J, Kapranov P, Drenkow J, *et al.* Transcriptional maps of 10 human chromosomes at 5-nucleotide resolution[J]. Science, 2005, 308(5725): 1149-54.
- [5] Mattick JS, Makunin IV. Non-coding RNA[J]. Hum Mol Genet, 2006, 15 Spec No 1: R17-29.
- [6] Taft RJ, Pang KC, Mercer TR, *et al.* Non-coding RNAs: regulators of disease[J]. J Pathol, 2010, 220 (2): 126-39.
- [7] Will CL, Luhrmann R, Cech R, *et al.* The RNA World[M]. 3rd edition. Long island, New York, USA. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2006: 369-400.
- [8] Mannoor K, Liao J, Jiang F. Small nucleolar RNAs in cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1826(1): 121-8.
- [9] Gardner PP, Bateman A, Poole AM. SnoPatrol: how many snoRNAs genes are there?[J]. J Biol, 2010, 9(1): 4.
- [10] Terns MP, Terns RM. Small nucleolar RNAs: versatile trans-acting molecules of ancient evolutionary origin[J]. Gene Expr, 2002, 10 (1-2): 17-39.
- [11] Smith CM, Steitz JA. Sno storm in the nucleolus: new roles for myriad small RNPs [J]. Cell, 1997, 89(5): 669-72.
- [12] Bortolin ML, Kiss T. Human U19 intron-encoded snoRNAs is processed from a long primary transcript that possesses little potential for protein coding[J]. RNA, 1998, 4(4): 445-54.
- [13] Zhang YC, Zhou H, Qu LH. Structure and function of snoRNAs[J]. Sheng Ming Ke Xue, 2008, 20(2): 171-7.[张筱晨, 周惠, 屈良鹄. snoRNA的结构与功能[J]. 生命科学, 2008, 20(2): 171-7.]
- [14] Chang LS, Lin SY, Lieu AS, *et al.* Differential expression of human 5S snoRNAs genes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 299(2): 196-200.
- [15] Kishore S, Stamm S. The snoRNA HBII-52 regulates alternative splicing of the serotonin receptor 2C[J]. Science, 2006, 311(5758): 230-2.
- [16] Dong XY, Rodriguez C, Guo P, *et al.* SnoRNA U50 is a candidate tumor-suppressor gene at 6q14.3 with a mutation associated with clinically significant prostate cancer[J]. Hum Mol Genet, 2008, 17(7): 1031-42.
- [17] Dong XY, Guo P, Boyd J, *et al.* Implication of snoRNAs U50 in human breast cancer [J]. J Genet Genomics, 2009, 36(8): 447-54.
- [18] Pacilli A, Ceccarelli C, Treré D, *et al.* SnoRNA U50 levels are regulated by cell proliferation and rRNA transcription[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(7): 14923-35.
- [19] Mei YP, Liao JP, Shen J, *et al.* Small nucleolar RNA 42 acts as an oncogene in lung tumorigenesis[J]. Oncogene, 2012, 31(22): 2794-804.
- [20] Liao J, Yu L, Mei Y, *et al.* Small nucleolar RNA signatures as biomarkers for non-small-cell lung cancer[J]. Mol Cancer, 2010, 9:198.
- [21] Donsante A, Miller DG, Li Y, *et al.* AAV vector integration sites in mouse hepatocellular carcinoma[J]. Science, 2007, 317(5837): 477.
- [22] Benetatos L, Vartholomatos G, Hatzimichael E. MEG3 imprinted gene contribution in tumorigenesis[J]. Int J Cancer, 2011, 129(4): 773-9.
- [23] Ko JM, Yau WL, Chan PL, *et al.* Functional evidence of decreased tumorigenicity associated with monochromosome transfer of chromosome 14 in esophageal cancer and the mapping of tumor-suppressive regions to 14q32[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2005, 43 (3): 284-93.
- [24] Feng J, Funk WD, Wang S, *et al.* The RNA component of human telomerase[J]. Science, 1995, 269(5228): 1236-41.
- [25] Trahan C, Dragon F. Dyskeratosis congenita mutations in the H/ACA domain of human telomerase RNA affect its assembly into a pre-RNP[J]. RNA, 2009, 15(2): 235-43.
- [26] Sieron P, Hader C, Hatina J, *et al.* DKC1 overexpression associated with prostate cancer progression[J]. Br J Cancer, 2009, 101(8): 1410-6.
- [27] Montanaro L, Bigotti M, Clohessy J, *et al.* Dyskerin expression influences the level of ribosomal RNA pseudo-uridylation and telomerase RNA component in human breast cancer[J]. J Pathol, 2006, 210(1): 10-8.
- [28] Cui Z, DiMario PJ. RNAi knockdown of Nopp 140 induces Minute-like phenotypes in Drosophila[J]. Mol Biol Cell, 2007, 18(6): 2179-91.
- [29] Isaac C, Marsh KL, Paznekas WA, *et al.* Characterization of the nucleoli gene product, treacle, in Treacher Collins syndrome [J]. Mol Biol Cell, 2000, 11(9): 3061-71.
- [30] Su H, Xu T, Ganapathy S, *et al.* Elevated snoRNA biogenesis is essential in breast cancer[J]. Oncogene, 2014, 33(11): 1348-58.
- [31] Nallar SC, Kalvakolanu DV. Regulation of snoRNAs in cancer: close encounters with interferon[J]. J Interferon Cytokine Res, 2013, 33(4): 189-98.
- [32] Nakamoto K, Ito A, Watabe K, *et al.* Increased expression of a nucleolar Nop5/Sik family member in metastatic melanoma cells: evidence for its role in nucleolar sizing and function [J]. Am J Pathol, 2001, 159 (4): 1363-74.
- [33] Michel CI, Holley CL, Scruggs BS, *et al.* Small nucleolar RNAs U32a, U33 and U35a are critical mediators of metabolic stress [J]. Cell Metab, 2011, 14 (1): 33-44.
- [34] Mourtada-Maarabouni M, Pickard MR, Hedge VL, *et al.* GAS5, a non-protein-coding RNA, controls apoptosis and is down-regulated in breast cancer[J]. Oncogene, 2009, 28(2): 195-208.
- [35] Williams GT, Farzaneh F. Are snoRNAs and snoRNA host genes new players in cancer?[J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(2): 84-8.
- [36] Askarian-Amiri ME, Crawford J, French JD, *et al.* SNORD-host RNA Zfas1 is a regulator of mammary development and a potential marker for breast cancer[J]. RNA, 2011, 17(5): 878-91.
- [37] Gee HE, Buffa FM, Camps C, *et al.* The small-nucleolar RNAs commonly used for microRNA normalization correlate with tumor pathology and prognosis[J]. Br J Cancer, 2011, 104(7): 1168-77.

[编辑: 安凤; 校对: 杨卉]