·综　　述·　　doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.18.042

长链非编码 RNA 与 mTOR 在肿瘤中的相关研究进展

于健鹏 综述,孙李斌,魏江浩,尚芝群,牛远杰△ 审校
(天津市泌尿外科研究所/天津医科大学第二医院泌尿外科　300211)

[关键词]　长链非编码 RNA;哺乳动物雷帕霉素靶蛋白;肿瘤
[中图分类号]　R730.23　　[文献标识码]　A　　[文章编号]　1671-8348(2017)18-2569-03

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)是一种相对保守的丝/苏氨酸蛋白激酶(AKT),与细胞凋亡、自噬、迁移黏附等密切相关,尤其是参与了肿瘤细胞的增殖和凋亡过程而得到普遍的关注[1],其异常活化经常出现在肿瘤细胞中。在临床肿瘤治疗中,mTOR 是重要的治疗靶点,也在某些中草药治疗中发挥作用[2],然而,mTOR 抑制剂并不能使肿瘤得到很好的控制。近几年基因组学和转录组学的飞速发展,使得长链非编码 RNA(long non-coding RNA,lncRNA)在正常组织和肿瘤组织中的差异性表达逐步被人们所重视,数量众多的 lncRNA 表达异常与肿瘤的发生、发展密切相关,其中部分 lncRNA 与 mTOR 相关通路密切相关,mTOR 可以调控 lncRNA 的表达水平,促进或者抑制肿瘤的发展。本文就二者紧密关系的最新进展进行综述,为 mTOR 抑制剂及相关靶向治疗提供新的思路。

1　mTOR 及其生物学功能

mTOR 是 1994 年从酵母中分离得到的一种 AKT,相对分子质量为 289×10^3,为磷酸肌醇激酶 3(PI3K)相关激酶(PIKKs)家族一员,由 HEAT 重复序列、FAT 结构域、FRB 激酶结构域、CD 结构域、NRD 及 FATC 结构域构成。在细胞内 mTOR 通过形成两种复合体 mTORC1 和 mTORC2 而发挥作用,其中 mTORC1 由 mTOR、Raptor、mLST8、PRAS40、Deptor 和 Tti1/Tel2 复合物组成,mTORC2 由 mTOR、mLST8、Deptor、Rictor、mSIN1、Protor1/2 和 Tti1/Tel2 复合物组成,mTOR 为两种复合物共同的催化亚单位。mTORC1 对雷帕霉素(RAPA)敏感,可在营养因素、能量、氧含量等刺激后调节蛋白质的翻译和细胞的代谢活动,相对地,mTORC2 对 RAPA 耐受,对于营养、能量信号刺激也不敏感[3],并且对调节蛋白质的翻译无直接作用[4]。

mTOR 为 PI3K-AKT-mTOR 信号通路的关键激酶[5],包括 RTK-PI3K-PKB/AKT-TSC2/TSC1-Rheb-mTOR1/mTOR2-S6Ks/4E-BP1[6],该通路通过促进缺氧诱导因子(HIF)的表达刺激肿瘤血管形成的方式,促进肿瘤的增殖转移和调控肿瘤细胞的凋亡等多种途径参与机体肿瘤的发生、发展。多种信号刺激能够激活细胞表面的酪氨酸蛋白激酶受体(receptor tyrosine kinases,RTK)[7],进而激活 PI3K 将细胞外信号传至细胞内。PI3K 被激活后可以将二磷酸肌醇(PIP2)磷酸化为三磷酸肌醇(PIP3),进而完全激活 AKT。活化的 AKT 通过磷酸化 TSC2 阻碍了 TSC2 与 TSC1 形成复合体,减弱了对 Rheb 的抑制,从而激活 mTOR,另外 AKT 也能够直接激活 mTOR。活化的 mTOR 磷酸化 S6Ks 和 4E-BP1 两个靶蛋白而发挥作用[8]。

2　lncRNA 及其生物学功能

全基因组和转录组测序技术的广泛应用,使得非编码 RNA(ncRNA)进入人们关注的视野,其中 IncRNA 在个体正常发育和疾病发生中的重要作用更是被重视。IncRNA 是真核细胞中发生转录但不翻译且转录本长度在 200 nt 以上的 ncRNA 分子,约占 RNA 总量的 98%。根据 lncRNA 与蛋白质编码基因的位置关系,可以将 lncRNA 分为以下几种类型:(1)外显子 lncRNA,是指 lncRNA 外显子与蛋白质编码基因外显子有交叉;(2)内含子 lncRNA,是指其一个蛋白质编码基因的内含子中,不与外显子交叉;(3)重叠 lncRNA,是指 lncRNA 的内含子中包含了蛋白质编码基因;(4)基因间 lncRNA,是指 lncRNA 位于两个相邻的蛋白质编码基因之间[9-10]。

近年研究发现,lncRNA 可通过表观遗传调控、转录及转录后调控多个层面来调节基因的表达,通过 X 染色体失活、基因印记、染色质重塑、转录激活与干扰等机制发挥其生物学功能,在生物体生长、发育和衰老等过程中发挥重要作用[11]。研究表明 lncRNA 可能通过以下机制调节基因的表达:(1)与转录因子或者 RNA 聚合酶作用促进或者抑制靶基因的表达;(2)lncRNA 招募染色质修饰复合体或者其他因子到特异性的基因位点发挥作用;(3)从某基因的启动子区转录的 lncRNA 可结合到该启动子区调节该基因的表达;(4)lncRNA 与剪切调节蛋白结合,影响靶 RNA 的可变剪切;(5)lncRNA 能够被剪成 miRNA 发挥作用;(6)lncRNA 作为"miRNA 海绵"来调节基因的表达;(7)lncRNA 与翻译因子相互作用抑制或促进翻译过程;(8)lncRNA 可连接它的靶 mRNA 来影响 mRNA 的稳定性,从而调节靶基因的表达水平[12]。若 lncRNA 出现异常表达,则可引起多种疾病的发生,特别是肿瘤的发生、发展,还能够用于肿瘤预后的评价。

3　lncRNA 与 mTOR 的关系

3.1　growth arrest-specific 5(GAS5)　GAS5 的基因是一种核仁小分子 RNA(snoRNA)的宿主基因,位于人类染色体 1q25,长度 630 nt[13-14],属于 5′-terminal oligopyrimidine tract(5′-TOP)基因家族成员[15],5′末端的寡聚核糖核苷酸序列决定了其生物学特性。近年来研究发现,GAS5 在乳腺癌、结直肠癌、前列腺癌、膀胱癌等中表达水平明显降低,其过表达可以诱导细胞凋亡,抑制肿瘤的生长和转移。有研究在雄激素依赖(LNCaP)、雄激素敏感(22Rv1)及雄激素非依赖(PC-3 和 DU145)的细胞系中加入 mTOR 抑制剂,进行 RT-PCR 分析,结果表明 mTOR 抑制剂提高了内生 GAS5 的转录水平,促进了细胞的凋亡,抑制了肿瘤的生长[16]。沉默 GAS5 的 LNCaP 和 22Rv1 对 mTOR 抑制剂的敏感性降低,转染 GAS5 的 PC-3 和 DU145 对 mTOR 抑制剂的敏感性增高。因此,GAS5 很可能能够反馈调节 mTOR 抑制剂的活性,在给予 mTOR 抑制剂治疗的同时靶向提高 GAS5 的转录水平可能会提高前列腺癌患者对 mTOR 抑制剂的敏感性,为提高 mTOR 抑制剂对前列腺癌化疗疗效提供了新的辅助策略。Williams 等[17]研究也表明,mTOR 抑制剂能够提高 GAS5 的表达水平,并且沉默 GAS5 能使得白血病 T 细胞和原代人 T 细胞的增殖免受 mTOR 抑制剂的抑制,说明 GAS5 参与了 mTOR 抑制剂的作用过程。

作者简介:于健鹏(1990－),在读硕士研究生,主要从事前列腺癌病因学相关方面研究。　△　**通信作者**,E-mail:yuanjieniu01@outlook.com。

3.2 colorectal neoplasia differentially expressed(CRNDE) CRNDE位于人类第16号染色体上，全长约200 kb，为结直肠癌中表达升高最明显的基因[18]。CRNDE不仅具有组织特异性，也表现出时序特点，在成人结直肠黏膜、肝和白细胞中极少表达，却在睾丸、乳腺和皮肤中高表达[19]。而且CRNDE在某些正常组织细胞中不表达，仅在癌细胞中被发现，说明其在肿瘤发生中发挥了关键作用。Wang等[20]通过qRT-PCR测定了37例神经胶质瘤患者的标本，CRNDE升高最多可达50倍，并且研究发现CRNDE能够促进神经胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。给予神经胶质瘤细胞RAPA处理，抑制mTOR，可使细胞增殖率下降，同时c-myc和细胞周期蛋白D1等增殖相关的表达会明显下调，而p53、PTEN等肿瘤抑制基因则明显上调。若敲除CRNDE，mTOR信号通路下游的P70S6K的磷酸化水平降低，细胞增殖率下降，与RAPA处理结果相似，说明CRNDE表达升高可能参与了mTOR对其下游分子的磷酸化，促进肿瘤的进展。此外，Ellis等[21]研究显示，PI3K/AKT/mTOR信号通路能够调节CRNDE的核转录水平，抑制其转录。因此，在给予mTOR抑制剂的同时可能增强了CRNDE的转录，又一次激活mTOR下游分子的生物学活性，影响了mTOR抑制剂的作用效果。

3.3 基因间长链非编码RNA-p21(large intergenic non-coding RNA-p21，lincRNA-p21) lincRNA-p21的功能具有多潜能性[22-23]，是瓦伯格效应的一个调节因子，还能调节血管内皮的形成，血管平滑肌的增殖凋亡[24]。Chou等[25]通过蛋白过表达、siRNA转染等方式发现mTOR能够在乳腺癌细胞中磷酸化热休克因子(HSF1)，提高HSF1依赖的HuR的表达，进而控制lincRNA-p21的表达，促进肿瘤的发生。因此，在给予mTOR抑制剂的同时靶向lincRNA-p21可能会增强肿瘤的抑制作用。

3.4 尿路上皮癌相关抗原1(urothelial cancer-associated 1，UCA1) UCA1是通过去抑制杂交技术从同一个患者的膀胱移形细胞癌标本BLS-211和BLZ-211两个细胞系中筛查克隆出来的。有研究发现，UCA1在膀胱癌中高表达并且增强了膀胱癌细胞体内体外的肿瘤性行为[26-27]，说明UCA1在膀胱癌进展中起到了致瘤作用。Li等[28]通过qPCR和Western blot等方法发现UCA1能够经mTOR-STAT3信号通路诱导己糖激酶2(hexokinase 2，HK2)的表达，进而调节肿瘤细胞的糖酵解，使得人们对于肿瘤代谢机制有了更深入的认识，说明UCA1作为临床治疗的潜在靶点，其致瘤作用可能被mTOR抑制剂部分阻断。

3.5 FLJ11812 FLJ11812位于TGF-β2转化生长因子-β2(transforming growth factor，TGF-β2)的3′非转录区。Ge等[29]通过基因芯片、RNA-ChiP等技术发现3-benzyl-5-((2-nitrophenoxy) methyl)-dihydrofuran-2(3H)-one(3BDO)能够靶向FK506连接蛋白1A(FK506-binding protein 1A，FKBP1A 12×10^3)来激活mTOR，并且3BDO在激活mTOR后可以增强T细胞限制性的细胞内抗原1(T-cell-restricted intracellular antigen-1，TIA1)的磷酸化，降低FLJ11812的细胞内水平，使得自噬相关基因13(autophagy-related 13，ATG 13)蛋白表达降低，减少细胞自我吞噬的发生，说明了抑制mTOR可以增强FLJ11812的表达，抑制细胞的增殖，从而抑制肿瘤的发展转移。

4 展 望

靶向mTOR的肿瘤治疗虽然日趋成熟，但仍然存在一些不足，仅仅对肾细胞癌、鞘状细胞淋巴瘤和子宫内膜癌的治疗效果较为明显。而且，对mTOR抑制剂发挥作用的相关具体机制仍不够清楚。近年随着分子生物学新技术的大量出现，lncRNA在肿瘤发生、发展中的作用逐渐清晰化。其中，部分lncRNA与mTOR相互作用，为研究mTOR在肿瘤发生、发展中的相关机制提供了新的思路，有可能将mTOR相关作用机制阐述清楚，从而为mTOR相关治疗的改进提供理论基础，优化mTOR抑制剂在临床中的应用策略以提高疗效。随着对mTOR相关通路认识的深入及参与的相关lncRNA的不断发现，可为肿瘤治疗提供更多的思路和理论依据。

参考文献

[1] Yang H，Rudge DG，Koos JD，et al. mTOR kinase structure，mechanism and regulation[J]. Nature，2013，497(7448)：217-223.

[2] Zhang L，Wang H，Zhu J，et al. Mollugin induces tumor cell apoptosis and autophagy via the PI3K/AKT/mTOR/p70S6K and ERK signaling pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun，2014，450(1)：247-254.

[3] Populo H，Lopes JM，Soares P. The mTOR signalling pathway in human cancer[J]. Int J Mol Sci，2012，13(2)：1886-1918.

[4] Tan HK，Moad AI，Tan ML. The mTOR signalling pathway in cancer and the potential mTOR inhibitory activities of natural phytochemicals[J]. Asian Pac J Cancer Prev，2014，15(16)：6463-6475.

[5] Yentrapalli R，Azimzadeh O，Sriharshan A，et al. The PI3K/Akt/mTOR pathway is implicated in the premature senescence of primary human endothelial cells exposed to chronic radiation[J]. PloS One，2013，8(8)：e70024.

[6] Djukom C，Porro LJ，Mrazek A，et al. Dual inhibition of PI3K and mTOR signaling pathways decreases human pancreatic neuroendocrine tumor metastatic progression[J]. Pancreas，2014，43(1)：88-92.

[7] Badura S，Tesanovic T，Pfeifer H，et al. Differential effects of selective inhibitors targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in acute lymphoblastic leukemia[J]. PloS One，2013，8(11)：e80070.

[8] 张颖，郝进. mTOR Complex1-S6K1信号通路在2型糖尿病发生发展中的作用[J]. 重庆医学，2012，41(31)：3333-3335.

[9] Shi X，Sun M，Liu H，et al. Long non-coding RNAs：a new frontier in the study of human diseases[J]. Cancer Lett，2013，339(2)：159-166.

[10] Derrien T，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.

[11] Lee JT，Bartolomei MS. X-inactivation，imprinting，and long noncoding RNAs in health and disease[J]. Cell，2013，152(6)：1308-1323.

[12] Sang H，Liu H，Xiong P，et al. Long non-coding RNA functions in lung cancer[J]. Tumor Biol，2015，36(6)：4027-4037.

[13] Isin M，Ozgur E，Cetin G，et al. Investigation of circulating lncRNAs in B-cell neoplasms[J]. Clin Chim Acta，2014，431(3)：255-259.

[14] Yin D，He X，Zhang E，et al. Long noncoding RNA GAS5 affects cell proliferation and predicts a poor prognosis in patients with colorectal cancer[J]. Med Oncol，2014，31(11)：253-256.

[15] Pickard MR, Mourtada-Maarabouni M, Williams GT. Long non-coding RNA GAS5 regulates apoptosis in prostate cancer cell lines[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1832(10): 1613-1623.
[16] Yacqub-Usman K, Pickard MR, Williams GT. Reciprocal regulation of GAS5 lncRNA levels and mTOR inhibitor action in prostate cancer cells[J]. Prostate, 2015, 75(7): 693-705.
[17] Williams GT, Mourtada-Maarabouni M, Farzaneh F. A critical role for non-coding RNA GAS5 in growth arrest and rapamycin inhibition in human T-lymphocytes[J]. Biochem Soc Trans, 2011, 39(2): 482-486.
[18] Kumar A, Suthers PF, Maranas CD. MetRxn: a knowledgebase of metabolites and reactions spanning metabolic models and databases[J]. BMC Bioinformatics, 2012, 13(1): 6-10.
[19] Ellis BC, Molloy PL, Graham LD. CRNDE: a long non-coding RNA involved in cancer, neurobiology, and development[J]. Front Genet, 2012(3): 270-276.
[20] Wang Y, Wang Y, Li J, et al. CRNDE, a long-noncoding RNA, promotes glioma cell growth and invasion through mTOR signaling[J]. Cancer Lett, 2015, 367(2): 122-128.
[21] Ellis BC, Graham LD, Molloy PL. CRNDE, a long non-coding RNA responsive to insulin/IGF signaling, regulates genes involved in central metabolism[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843(2): 372-386.
[22] Bao X, Wu H, Zhu X, et al. The p53-induced lincRNA-p21 derails somatic cell reprogramming by sustaining H3K9me3 and CpG methylation at pluripotency gene promoters[J]. Cell Res, 2015, 25(1): 80-92.
[23] Dimitrova N, Zamudio JR, Jong RM, et al. LincRNA-p21 activates p21 in cis to promote Polycomb target gene expression and to enforce the G1/S checkpoint[J]. Mol Cell, 2014, 54(5): 777-790.
[24] Yang F, Zhang H, Mei Y, et al. Reciprocal regulation of HIF-1alpha and lincRNA-p21 modulates the Warburg effect[J]. Mol Cell, 2014, 53(1): 88-100.
[25] Chou SD, Murshid A, Eguchi T, et al. HSF1 regulation of beta-catenin in mammary cancer cells through control of HuR/elavL1 expression[J]. Oncogene, 2015, 34(17): 2178-2188.
[26] Yang C, Li X, Wang Y, et al. Long non-coding RNA UCA1 regulated cell cycle distribution via CREB through PI3-K dependent pathway in bladder carcinoma cells[J]. Gene, 2012, 496(1): 8-16.
[27] Wang Y, Chen W, Yang C, et al. Long non-coding RNA UCA1a(CUDR) promotes proliferation and tumorigenesis of bladder cancer[J]. Int J Oncol, 2012, 41(1): 276-284.
[28] Li Z, Li X, Wu S, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes glycolysis by upregulating hexokinase 2 through the mTOR-STAT3/microRNA143 pathway[J]. Cancer Sci, 2014, 105(8): 951-955.
[29] Ge D, Han L, Huang S, et al. Identification of a novel MTOR activator and discovery of a competing endogenous RNA regulating autophagy in vascular endothelial cells[J]. Autophagy, 2014, 10(6): 957-971.

(收稿日期:2017-01-14 修回日期:2017-03-18)

·综 述· doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.18.043

糖尿病患者自我护理行为及影响因素研究进展

李超群 综述,井坤娟△ 审校
(河北大学护理学院,河北保定 071000)

[关键词] 糖尿病;自我护理行为;研究进展
[中图分类号] R471 [文献标识码] A [文章编号] 1671-8348(2017)18-2571-03

世界卫生组织将2016年世界卫生日的关注重点确定为“应对糖尿病”,可见糖尿病已成为全球瞩目的公共卫生问题,世界上大约3.82亿人口受糖尿病影响。我国糖尿病患病率从1979—2012年增长了6.41%[1],不断增长的患病率给家庭和社会带来了很大的经济负担和疾病负担。为了减缓并发症的发生、降低致残率、提高患者生活质量,健康饮食、身体锻炼、规范用药、血糖监测等多方面的自我护理行为对于糖尿病患者尤为重要。研究证实,糖尿病患者掌握并坚持实施自我护理行为可以有效控制血糖,减缓糖尿病慢性并发症的发生,改善生活质量[2-3]。本文对糖尿病患者自我护理行为及影响因素进行综述,并提出了自己的思考,以为提高糖尿病患者的自我护理行为水平提供临床参考。

1 糖尿病自我护理行为的测量工具

1.1 2型糖尿病自护行为量表(2- diabetes self -care scale,2-DSCS) 中国台湾学者Wang等[4]于1998年编制了2-DSCS,此量表包括饮食控制、规律锻炼、遵医嘱服药、血糖监测、足部护理和高低血糖处理6个分量表,采用李克特5级评分法,分数越高说明自护行为水平越好。为使各维度之间更容易观察和比较,可以将原始分数转化为百分制。该量表被证实具有良好的信度和效度,有一定的应用价值,但是只适用于2型糖尿病(2TDM)患者,应用范围较窄。

1.2 糖尿病自我护理行为问卷(the summary of diabetes self-care activities measure,SDSCA) 该问卷是国际上应用最为成熟广泛的糖尿病自我护理行为测量工具。该量表由Toobert等[5]修订,涉及饮食(4个项目)、运动(2个项目)、血糖监测(2个项目)、足部护理(2个项目)和吸烟状况(1个项目)5个维度,共11个条目。该量表采用7分制计分,由于各维度的总分不同,故取每个维度的平均值进行比较,分数越高表示自我护理行为就越好。Kamradt等[6]研究发现,此问卷除具体饮食条目相关性较低外,其他各维度条目相关性较好。华丽等[7]对原

作者简介:李超群(1991—),在读硕士研究生,主要从事老年慢性病护理的研究。 △ 通信作者,E-mail:jingkunjuan@qq.com。