

竞争性内源 RNA 的生物学功能及其调控

李静秋^{1,2}, 杨杰^{1,2}, 周平^{1,2}, 乐燕萍^{1,2}, 龚朝辉^{1,2}

1. 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所, 宁波 315211;

2. 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211

摘要: 最新研究表明, RNA 之间可以通过竞争结合共同的 microRNA 反应元件(microRNA response element, MRE)实现相互调节, 这种调控模式构成竞争性内源 RNA(Competing endogenous RNA, ceRNA)。已发现的 ceRNA 包括蛋白编码 mRNA 和非编码 RNA, 其中后者包括假基因转录物、长链非编码 RNA(Long non-coding RNA, lncRNA)、环状 RNA(Circular RNA, circRNA)等。文章主要从 ceRNA 分类的角度, 阐述各类 ceRNA 构成的调控网络发挥的生物学功能在病理和生理相关过程中的作用, 以及可能影响 ceRNA 调控有效性的因素。

关键词: 竞争性内源 RNA; 微 RNA 反应元件; 假基因; 长链非编码 RNA; 环状 RNA

The biological functions and regulations of competing endogenous RNA

Jingqiu Li^{1,2}, Jie Yang^{1,2}, Ping Zhou^{1,2}, Yanping Le^{1,2}, Zhaohui Gong^{1,2}

1. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo 315211, China

Abstract: Recent studies demonstrate that RNA species could regulate each other by competing for shared microRNA response elements (MREs). This regulatory model is called competing endogenous RNA (ceRNA). Currently, the identified ceRNAs cover coding and non-coding RNAs. The latter includes pseudogene transcripts, long non-coding RNAs (lncRNAs), circular RNAs (circRNAs) and so on. In this review, we summarize the biological functions of regulatory networks consisting of various types of ceRNAs and their roles in the pathological and physiological processes. Additionally, several factors that may regulate ceRNAs were discussed.

Keywords: competing endogenous RNA; microRNA response element; pseudogene; long non-coding RNA; circular RNA

收稿日期: 2015-02-09; 修回日期: 2015-04-07

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(编号: LY15C060003), 浙江省高等学校中青年学科带头人学术攀登项目(编号: pd2013103), 浙江省科技厅公益技术应用研究项目(编号: 2013C37029), 宁波市科技创新团队项目(编号: 2011B82014), 宁波市社发攻关项目(编号: 2014C50058)和宁波大学王宽诚教育基金资助

作者简介: 李静秋, 硕士研究生, 专业方向: 肿瘤分子生物学。Tel: 0574-87600754; E-mail: jqli@ncmi.org.cn

通讯作者: 龚朝辉, 博士, 教授, 研究方向: 肿瘤分子生物学。E-mail: zhaohui@ncmi.org.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.15-073

网络出版时间: 2015-6-1 9:10:46

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150601.0910.001.html>

1 ceRNA 假说的由来

DNA 元件百科全书(Encyclopedia of DNA Elements, ENCODE)等研究成果表明人类基因中仅有 1%~2% 的序列能够编码蛋白质, 大量非编码 RNA 在基因组范围内的作用机制及其对编码基因的调控仍知之甚少^[1,2]。研究发现, RNA 之间能通过竞争有限的微 RNA 池(miRNA pool, miRNA pool)相互影响各自的表达水平^[3,4]。基于这些研究背景, 哈佛医学院 Pandolfi 课题组于 2011 年提出了竞争性内源 RNA(Competing endogenous RNA, ceRNA)假说^[5]: 他们认为除了已知的 microRNA (miRNA)通过与靶基因结合, 在转录后水平影响 RNA 的稳定性和翻译过程, RNA 也能反过来影响 miRNA 的水平。各种类型的 RNA 转录物以 miRNA 反应元件(miRNA response elements, MREs)为语言, 通过竞争结合共同的 miRNA, 影响游离 miRNA 的表达水平, 实现相互调节(图 1), 同时两个 RNA 之间共有 miRNA 种类越多, 竞争性内源关系越强^[5]。

2 ceRNA 的分类及其生物学功能

ceRNA 假说的提出, 赋予了 mRNA 和非编码 RNA 新的、更广泛的生物学功能。各种类型 RNA 之间通过 RNA-RNA 对话(Crosstalk)所构成的调控网络在生物学和病理生理过程中发挥作用^[5]。目前 ceRNA 大致包括 mRNA、假基因(Pseudogene)转录物、长链非编码 RNA(Long non-coding RNA, lncRNA)和环状 RNA(Circular RNA, circRNA)等。

2.1 mRNA 作为 ceRNA

mRNA 作为编码基因的转录物, 多数包含有与 miRNA 种子序列互补结合的区域, 也具有与其他 mRNA 竞争结合相同 miRNA 的能力, 从而参与基因的表达调控。目前研究最多的是第 10 染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白(Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, PTEN)编码基因的 ceRNA。Tay 等^[6]发现 CCR4-NOT 转录物复合体亚基 6 样基因(CCR4-NOT transcription complex, subunit 6-like, *CNOT6L*)和囊泡相关膜蛋白相关蛋白 A 基因(Vesicle-associated membrane protein-associated protein A, *VAPA*)的 mRNA 均含有相同的 MRE, 与 *PTEN* mRNA 竞争结合相同的 miRNA。当 *CNOT6L* 和 *VAPA* 的 mRNA 表达下调时, 即转录出的 mRNA 减少, 与其结合的 miRNA 也变少, 而与 *PTEN* mRNA 结合的 miRNA 增多, 导致 *PTEN* 蛋白质翻译量减少。因此, 这两个基因能以 *PTEN* 相似的方式, 拮抗磷酸肌醇 3 激酶(Phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)信号通路, 具有肿瘤抑制基因的特性。同时, Karreth 等^[7]通过实验发现锌指 E-盒结合同源异型框 2 基因(Zinc finger E-box binding homeobox 2, *ZEB2*)的 mRNA 也是 *PTEN* mRNA 的 ceRNA。作为 *PTEN* 的 ceRNA, *ZEB2* mRNA 以 miRNA 依赖且编码蛋白不依赖的方式调节 *PTEN* 表达水平, 并通过激活 *PTEN* 调控的下游信号通路促进黑色素瘤的进程。除了抑癌基因 *PTEN* mRNA 外, 还发现癌基因-高迁移率族蛋白 A2(High-mobility group AT-hook 2, *HMG A2*)的 mRNA 能以不依赖蛋白编码功能的方式

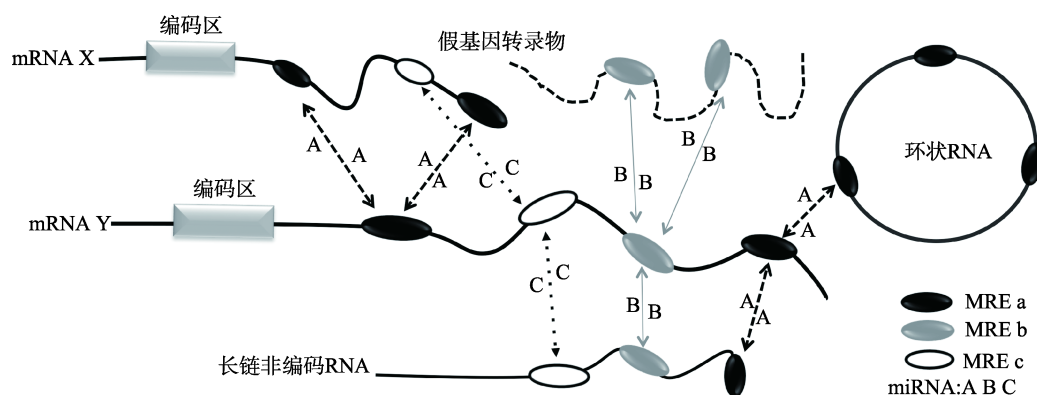


图 1 竞争性内源 RNA(ceRNA)的调控机制

蛋白编码 mRNA X、假基因转录物、环状 RNA 和长链非编码 RNA 各自与 mRNA Y 有相同的微 RNA 反应元件(MREs), 能相互竞争游离的 miRNA 实现相互调节。

式作为 ceRNA。这是因为 *HMGA2* mRNA 的 3'-UTR 含有 7 个 let-7 的结合位点,能通过减少游离的 let-7 家族表达水平,进而调节转化生长因子 β 受体 3(Transforming growth factor beta receptor 3, *TGFBR3*)基因的表达,导致 TGF- β 信号通路增强,促进肺癌的进程^[8]。

ceRNA 调控网络除了影响信号通路,还能以其他方式参与肿瘤的发生和发展过程。通过对星形胶质细胞上调基因 1(Astrocyte elevated gene-1, *AEG-1*) mRNA 3'UTR 研究发现,*AEG-1* 的 mRNA 在人非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)中作为 ceRNA 影响 miR-30a 的活性,诱导上皮间质转化(Epithelial-mesenchymal transition, EMT),进而影响肿瘤转移。这主要是由于 *AEG-1* 的 mRNA 与间质细胞标志物 Snail 和波形蛋白的 mRNA 间存在内源竞争关系^[9]。Yang 等^[10]对叉头状转录因子 O1(Forkhead transcription factor O1, *FoxO1*)基因转录的 mRNA 3'UTR 的研究发现,*FoxO1* 的 mRNA 在乳腺癌细胞中作为 ceRNA 调节 miR-9 的表达,抑制 EMT 进程和转移过程。这是由于 *FoxO1* mRNA 的 3'UTR 与 E-钙粘蛋白(E-cadherin)基因转录的 mRNA 3'UTR 通过竞争结合 miR-9 实现相互调节,表达 *FoxO1* 3'UTR 能促进 *E-cadherin* 的表达,从而抑制 EMT 进程。以上研究表明,ceRNA 通过调节 EMT,从而在肿瘤转移过程中发挥重要作用。

mRNA 3'UTR 参与的 ceRNA 调节在其他病理生理过程中也有着重要作用。例如,过表达多能蛋白聚糖(Versican)mRNA 的 3'UTR 能诱导器官的粘连。这主要是由于 *Versican* 的 mRNA 和纤连蛋白(Fibronectin)的 mRNA 3'UTR 上均有 miR-199 的结合位点,通过影响 miR-199 的活性,减少 miR-199 对

这两个基因表达的抑制^[11]。对 *Versican* 3'UTR 的其他研究也发现,其与细胞周期调节因子——视网膜瘤相关基因 1(Retinoblastoma-associated1, *Rb1*)有相同的 miRNA 结合位点,它们共同被 miR-144 和 miR-199a-3p 调控。过表达 *Versican* 3'UTR,使得 *Rb1* 基因表达上调,进而导致细胞增殖能力下降^[12]。Zhao 等^[13]在对视网膜病变机理的研究中发现,血管紧张素 2(Angiotensin-2, Ang-2)和血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)的编码 mRNA 在缺氧条件下表达上调,且竞争结合 miR-351。沉默 *Ang-2* 或 *VEGF* 均能增加游离的 miR-351 水平,上调 miR-351 的表达,进而显著抑制 *Ang-2* 和 *VEGF* 的表达。上述研究表明,蛋白编码 mRNA 作为 ceRNA,能够通过竞争同种 miRNA 调控多种生物学行为(表 1)。

2.2 假基因转录物作为 ceRNA

假基因是一类具有与其功能基因序列相似,通常情况下不具有蛋白质翻译功能的基因,翻译过程因提前终止密码子、移码突变、插入或缺失而中断^[14]。假基因在基因组中一直被认为是垃圾基因,但随着研究的深入,发现假基因能通过多个机制促进或抑制其同源基因的表达,增强或抑制其生物功能,其中包括假基因的转录物能作为 ceRNA 吸附 miRNA^[15]。假基因的转录物可以作为理想的 ceRNA,是由于它们具有很多与其同源基因相同的 MRE^[16]。例如,许多在 *PTEN* 3'UTR 上的保守 MRE,也出现在 *PTEN* 的假基因 *PTENP1* 的转录物中,并且过表达 *PTENP1* 的 3'UTR,并以 Dicer 依赖的方式上调 *PTEN* 的表达水平,这暗示 *PTENP1* 转录物通过与 *PTEN* mRNA 竞争共同的 miRNA,从而调节 *PTEN* 的表达^[3]。假基因的转录物在 ceRNA 调控中作为

表 1 作为 ceRNA 的编码基因及其生物学功能

编码基因	竞争性内源 RNA	竞争的 miRNA	生物学功能	参考文献
<i>PTEN</i>	<i>CNOT6L</i> , <i>VAPA</i>	miR-17、miR-19a、miR-19b、miR-20a、miR-20b 等	抑制肿瘤	[6]
	<i>ZEB2</i>	miR-25、miR-92a、miR-181、miR-200b	抑制肿瘤	[7]
<i>HMGA2</i>	<i>TGFBR3</i>	let-7 家族	促进肿瘤	[8]
<i>AEG</i>	<i>Snail</i> <i>Vimentin</i>	miR-30a	诱导 EMT	[9]
<i>FOXO1</i>	<i>E-cadherin</i>	miR-9	抑制 EMT	[10]
<i>Versican</i>	<i>Fibronectin</i>	miR-199	诱导器官粘连	[11]
<i>Ang-2</i>	<i>Rb1</i>	miR-144、miR-199a-3p	抑制细胞增殖	[12]
	<i>VEGF</i>	miR-351	诱导视网膜病变	[13]

miRNA 分子海绵(Sponge), 其作用可被功能化。

由于假基因的同源基因可能是关键致病基因(如肿瘤抑制基因或癌基因), 所以通过 ceRNA 调节, 假基因也能在病理过程中发挥一定作用。如 *PTEN* 的假基因 *PTENP1*, 与 *PTEN* 一样具有抑制肿瘤的特性, 并在一些人类肿瘤中选择性缺失^[3]。对其他假基因的研究发现, 过表达 *KRAS* 假基因 *KRASIP* 的 3'UTR, 能增加 *KRAS* 转录物的表达, 并加速细胞的增殖速度, 影响肿瘤的发生^[5,17,18]。对干细胞多效转录因子 *OCT4* 的研究发现, 其假基因 *OCT4-pg4* 在肝癌中被异常激活, 且其表达水平与 *OCT4* 呈正相关。由于 *OCT4* 和 *OCT4-pg4* 都能被 miR-145 作用, 因此 *OCT4-pg4* 作为天然的 miR-145 海绵保护 *OCT4* 免受 miR-145 的作用, 使 *OCT4* 的蛋白表达水平升高, 从而促进肝癌细胞的生长和肿瘤的发生^[19]。此外, 整合子复合物亚基 6(Integrator complex subunit 6, INTS6)相关假基因 *INTS6P1* 能与 *INTS6* 竞争结合 miR-17-5p, 发挥抑癌作用^[20]。以上研究表明, 假基因在基因组中并非无关紧要, 其通过 ceRNA 的作用方式调节其同源编码基因的表达, 进而在癌症相关的病理过程中发挥着重要的作用。

2.3 lncRNA 作为 ceRNA

lncRNA 是一类长度大于 200nt、由 RNA 聚合酶或转录、保守性较低的非编码 RNA, 并且其转录物可通过多种调节机制参与生物学过程^[21~24]。目前已发现超过 10 000 种 lncRNA 可能具有潜在的 ceRNA 特性, 许多研究已经证实 lncRNA 作为 miRNA 和 mRNA 的竞争平台, 在病理和生理相关过程中发挥重要作用^[17]。

研究发现, 一些异常表达的疾病特异性的 lncRNA 通过 ceRNA 介导的相互作用在癌症的进程中产生深远影响。在对 lncRNA-*BGL3* 的研究中发现, 其与 *PTEN* 竞争结合 miR-17、miR-93、miR-20a、miR-20b、miR-106a 和 miR-106b, 并影响 *PTEN* 的表达水平及其下游 PI3K/AKT 信号通路, 进而影响 *Bcr-Abl* 的转化过程和肿瘤的生成^[25]。同样, lncRNA-*HLUC* 在肝癌样本和细胞系中表达显著上调。对 *HLUC* 上调的多个机制研究中发现, 其 ceRNA 特性是一个复杂的自动环路的一部分: *HLUC* 作为分子海绵抑制 miR-372 的表达和活性, 从而减少 miR-372 对 cAMP 依赖性蛋白激酶 A 催化亚基

β (cAMP-dependent protein kinase A catalytic subunit β , PRKACB)的抑制作用, 而 PRKACB 能诱导 cAMP 反应结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)的磷酸化, 在肝癌中提高 CREB 依赖的 *HULC* 表达上调^[26]。这些研究表明, lncRNA 作为 ceRNA 在相关信号通路和环路中发挥作用, 影响癌症的进程。

除了在癌症进程中的作用, lncRNA 亦可作为 ceRNA 在一些生理过程中发挥重要作用。如内源性 lncRNA *Linc-MD1* 以 ceRNA 的方式调控肌肉分化的过程。*Linc-MD1* 能分别结合 miR-133 和 miR-135, 从而与它们的靶基因——决定因子样蛋白-1(Mastermind-like protein 1, MAML1)和肌细胞特异性增强因子 2C(Myocyte-specific enhancer factor 2C, MEF2C)产生竞争性效应^[27]。在对另一个 lncRNA——*H19* 的研究中发现, 其不仅作为 let-7 的分子海绵调节 let-7 的表达, 而且使 let-7 的靶基因 *HGMA2* 和 *Dicer* 在蛋白水平表达上调^[28]。由于 let-7 的表达通常与细胞的分化状态相关^[29], 在小鼠肌源性细胞 C2H2 中的研究中发现 *H19* 的缺失与过表达 let-7 产生的效果一致, 均可显著增加肌球蛋白重链(Myosin heavy chain, MHC)和肌细胞生成素(Myogenin, MyoG)的表达, 从而加速肌肉分化^[28]。以上 lncRNA 作为 ceRNA 在肌肉分化中的作用说明 lncRNA 以 ceRNA 角色参与生长发育调节, 也可能在其他生物学过程中发挥作用。

2.4 circRNA 作为 ceRNA

circRNA 是一类由特殊的选择性剪切产生的非编码 RNA, 与线性 RNA 不同的是: circRNA 呈封闭环状结构, 不受 RNA 外切酶的影响, 表达更稳定^[30~33]。研究表明, 某些特殊的 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, 是一类高效率的 ceRNA^[34]。如小脑变性相关蛋白 1 反义链(Cerebellar degeneration-related protein 1 antisense, *CDR1as*)包含 63 个保守的 miR-7 结合位点, 该 circRNA 在细胞中和 miRNA 效应物密集地结合, 能有效地解除 miR-7 对其靶基因的抑制作用, 升高靶基因的表达水平^[34]。在斑马鱼(*Danio rerio*)模型中(本身不表达 *CDR1as*), 表达 *CDR1as* 与敲除 miR-7 有类似的效果, 都能损伤斑马鱼中脑的发育^[35]。研究发现, miR-7 作为关键调节因子广泛参

与癌症途径,如抑制在乳腺癌、胶质瘤等癌症中表达显著上调的信号激酶 P21 激活激酶 1(P21-activated kinase 1, Pak1)的表达^[36]; miR-7 也能通过作用 α -突触核蛋白(α -synuclein)编码的 mRNA 3'UTR,抑制其表达^[37]。这些研究暗示 *CDR1as* 因其 ceRNA 特性能有效地吸附 miR-7,可能是神经元功能的调节因子,也可能是神经系统疾病和癌症治疗的潜在靶点。

Capel 等^[38]对另一个已知环状 RNA 性别决定区域 Y(Sex-determining region Y, *Sry*)的 RNA 研究发现,该 RNA 含有 16 个 miR-138 的结合位点,利用靶点分析实验和免疫共沉淀实验证实该环状 RNA 能作为 miR-138 的分子海绵,抑制 miR-138 的表达。同时,Granados-Riveron 等^[39]进一步研究发现 *Sry* 的正义链转录物和其反义链转录物类似,也能发生环化并作为 miR-138 的分子海绵起作用。目前结合最新生物信息学工具和相关实验技术在基因组中发现成千上万种 circRNA 在特定组织或特定发育阶段稳定表达^[39~42],这暗示 circRNA 在基因组中的含量很丰富,并非 RNA 选择性剪接产生的随机物,它在一定程度上可能参与基因的表达调控。如利用 RNA 转录组测序(RNA sequencing, RNA-seq)数据分析果蝇 circRNA 的生物合成和功能,发现其 circRNA 上含有大量保守的 miRNA 结合位点^[43]。这些结果显示 circRNA 作为潜在的高效 ceRNA 分子,对其进一步的生物学功能研究具有重要意义。

以上非编码 RNA 作为 ceRNA 及其生物学功能见表 2。

3 ceRNA 的调节

目前,许多研究已表明 ceRNA 之间的相互作用,但对于哪些因素可能会影响某个 RNA 分子发挥其 ceRNA 功能仍不清楚。我们推测构成 ceRNA 调控网络的各个组分数量级、RNA 3'UTR 的变化以及 RNA 结合蛋白(RNA binding protein, RBP)的作用都有可能对 ceRNA 构成的调控网络产生重要的影响。

3.1 ceRNA、miRNA 和 MRE 的数量

ceRNA 和 miRNA 的表达水平会影响 ceRNA 网络的交互作用。当总的转录物数量远远超过 miRNA 数量时,整体的 ceRNA 关系很弱,因为只有数量有限的 miRNA 起抑制作用。相反,当 miRNA 的数量远大于 ceRNA 分子数量时,交互作用不太可能发生,因为转录物都处于被抑制的状态。因此,交互调节可能发生在所有 ceRNA 和 miRNA 数量在近似数量级的网络中^[44]。Kumar 等^[8, 45]利用 RNA-seq 分析得到 *HMGA2* 和 *TGFBR3* 的转录物表达水平相似,并且共同结合的 let-7 家族成员的总表达水平与 *HMGA2* 和 *TGFBR3* 的表达水平在一个数量级,这进一步用实验证明最佳的 ceRNA 对话可能发生在 miRNA 与 ceRNA 转录物丰度一致的情况下。

此外 ceRNA 间共同的 MRE 数量也会影响 ceRNA 调节。为了验证这一假设,Ala 等^[44]构建了一个实验模型:该模型由 10 个 ceRNA 和 10 个 miRNA 共同组成,但并不是所有的 ceRNA 都能被这 10 个 miRNA 作用。研究发现,当增加其中某一

表 2 作为 ceRNA 的非编码 RNA 及其生物学功能

非编码 RNA	含 MRE 数量	竞争性内源 RNA	竞争的 miRNA	生物学功能	参考文献
假基因	少	<i>PTENP1</i>	<i>PTEN</i>	miR-17、miR-19、miR-21、miR-26 等	抑制肿瘤 [3]
		<i>KRAS</i>	<i>KRAS</i>	let-7 家族	促进肿瘤 [5,17,18]
		<i>OCT4pg4</i>	<i>OCT4</i>	miR-145	促进肿瘤 [19]
		<i>INTS6P1</i>	<i>INTS6</i>	miR-17-5P	抑制肿瘤 [20]
长链非编码 RNA	少	<i>lncRNA-BGL3</i>	<i>PTEN</i>	miR-17、miR-93、miR20a 等	抑制肿瘤 [25]
		<i>HLUC</i>	<i>PRKACB</i>	miR-372	促进肿瘤 [26]
		<i>Linc-MD1</i>	<i>MAML1</i> <i>MEF2C</i>	miR-133 miR-135	影响肌肉分化 [27]
		<i>H19</i>	<i>HMGA2</i> <i>Dicer</i>	let-7	影响肌肉分化 [29]
环状 RNA	多	<i>CDR1as</i>		miR-7	影响中脑发育 [34,35]
		<i>Sry</i>		miR-138	[34,38,39]

个特定 ceRNA 表达时, 含有更多 MRE 的 RNA 表达会显著上升, 而对于不含有共同 MRE 的其他 RNA 则几乎没有作用。由此说明单个 RNA 所含 MRE 的数量也可能决定其在 ceRNA 调控网络中的作用。

3.2 3'UTR 的变化

目前对于 ceRNA 的研究主要是基于 miRNA 作用于 mRNA 的 3'UTR 而引发的分子间竞争所导致的相互调控。因此, mRNA 分子 3'UTR 的变化会影响 ceRNA 调控。研究发现, mRNA 剪接和聚腺苷酸化这两个过程会影响 mRNA 的 3'UTR。mRNA 的剪接会影响分子的稳定性也会减少或增加 3'UTR 上 miRNA 的结合位点, 聚腺苷酸化常使编码基因转录出更短的 3'UTR^[46,47]。对于 3'UTR 变短的转录物, 一方面, 直接靶向它的 miRNA 会减少; 另一方面, 它作为 ceRNA 调节其他转录物的能力也将减弱^[17]。Mayr 等^[47]在研究中发现, 3'UTR 变短的转录物上一些 miRNA 的结合位点消失。miRNA 既可以使 mRNA 降解, 也可以抑制 mRNA 翻译。在不同组织和基因间的实验发现, 3'UTR 变短的转录物的稳定性更强, 并且编码更多的蛋白质。因此, 无论是 3'UTR 上序列的变化还是长度的变化, 都可能影响 ceRNA 发挥其功能。

3.3 RBP 与 miRNA 间的相互影响

RBP 在许多转录后过程中起着重要作用, 包括影响 RNA 剪接、稳定性、转运和翻译^[48]。RNA 间除了相互竞争共同的 miRNA, 也可能竞争共同的 RBP。这两个调节过程可能不是分开的, 它们之间也存在着内在的联系^[17]。RBP 不仅与 miRNA 通过竞争或合作结合特异性位点影响它们靶向的 mRNA 表达, 还可能由于 RBP 的结合导致 RNA 二级结构的改变, 从而改变了 miRNA 的结合位点^[49,50]。由于 RBP HuR 发现得较早, 在这方面的研究较多。研究发现 RBP HuR 和 miRNA 之间的竞争通常能增强基因的表达, 如 HuR 分别与 miR-122、miR-548c、miR-494、miR-16 和 miR-331-3p 竞争结合阳离子氨基酸转运蛋白 1(Cationic amino acid transporter 1, CAT1)、拓扑异构酶 α (Topoisomerase α , TOP2A)、核仁素(Nucleolin, NCL)、环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2, COX2)和 *ERBB2* 的 mRNA, 抑制相应 miRNA 作用于这些 mRNA, 从而促进 mRNA

合成^[49,51~55]; 而 HuR 和 miRNA 间的结合通常降低它们靶向 mRNA 的表达, 如 HuR 能作用 C-MYC mRNA 3'UTR, 上调其表达, 但当 HuR 与 let-7 的 RNA 诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)作用时, 会抑制 C-MYC 的表达^[56]。上述研究说明, RBP 可能通过与 miRNA 相互影响, 进而在 ceRNA 网络产生影响。

4 结 语

目前 ceRNA 的研究仍然处于起步阶段, 每种 ceRNA 的类型如假基因转录物、lncRNA、circRNA 等的研究例子都较少。一方面需要发现更多类型的 ceRNA, 另一方面需要探索 ceRNA 交叉对话是否是一个普遍的、大型的 RNA 转录调控网络^[17]。ceRNA 的预测是限制其主要影响因素, 改进预测策略将有助于发现更多的 ceRNA。与紫外交联免疫沉淀高通量测序(High-throughput sequencing of RNA isolated by crosslinking immunoprecipitation, HITS-CLIP)和光激活性增强的核糖核苷交和免疫共沉淀(Photoactivatable-ribonucleoside-enhanced crosslinking and immunoprecipitation, PAR-CLIP)等一些新的技术结合将优化在全基因组范围内预测 ceRNA。另外, 如果 ceRNA 的预测不局限在典型的转录物 3'UTR 的 MRE, 也能提高 ceRNA 的预测范围。最近研究表明, miRNA 的调节作用并不限制在转录物的 3'UTR, 也可能在转录物的编码区或 5'UTR^[57]。此外, 目前对 ceRNA 的研究都在两个 RNA 之间, 而越来越多的研究表明 ceRNA 交叉对话是一个大型的调控网络。除了直接通过共有的 miRNA 引起的相互作用, 非直接的相互作用对 ceRNA 调控也可能产生深远的影响。未来对 ceRNA 的研究应该不局限于发现二元 ceRNA 交互作用, 也应该分析潜在的交织的 miRNA 与 ceRNA 网络^[44,58]。虽然目前对 ceRNA 网络的研究还不够成熟, 但 RNA-miRNA-RNA 作为一个新的、在转录后水平以竞争性内源的调节方式调控基因的机制, 可应用于生物学过程的系统研究, 为疾病的研究和治疗提供新方法。

参考文献

- [1] Kapranov P, Willingham AT, Gingeras TR. Genome-wide transcription and the implications for genomic organization. *Nat Rev Genet*, 2007, 8(6): 413–423.[DOI]

- [2] Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Mol Cell*, 2011, 43(6): 904–914. [DOI]
- [3] Poliseno L, Salmena L, Zhang J, Carver B, Haveman WJ, Pandolfi PP. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*, 2010, 465(7301): 1033–1038. [DOI]
- [4] Seitz H. Redefining microRNA targets. *Curr Biol*, 2009, 19(10): 870–873. [DOI]
- [5] Salmena L, Poliseno L, Tay Y, Kats L, Pandolfi PP. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language?. *Cell*, 2011, 146(3): 353–358. [DOI]
- [6] Tay Y, Kats L, Salmena L, Weiss D, Tan SM, Ala U, Karreth F, Poliseno L, Provero P, Di Cunto F, Lieberman J, Rigoutsos I, Pandolfi PP. Coding-independent regulation of the tumor suppressor PTEN by competing endogenous mRNAs. *Cell*, 2011, 147(2): 344–357. [DOI]
- [7] Karreth FA, Tay Y, Perna D, Ala U, Tan SM, Rust AG, DeNicola G, Webster KA, Weiss D, Perez-Mancera PA, Krauthammer M, Halaban R, Provero P, Adams DJ, Tuveson DA, Pandolfi PP. *In vivo* identification of tumor-suppressive PTEN ceRNAs in an oncogenic BRAF-induced mouse model of melanoma. *Cell*, 2011, 147(2): 382–395. [DOI]
- [8] Kumar MS, Armenteros-Monterroso E, East P, Chakravorty P, Matthews N, Winslow MM, Downward J. HMGA2 functions as a competing endogenous RNA to promote lung cancer progression. *Nature*, 2014, 505(7482): 212–217. [DOI]
- [9] Liu KM, Guo L, Guo YJ, Zhou B, Li T, Yang H, Yin RT, Xi T. AEG-1 3'-untranslated region functions as a ceRNA in inducing epithelial-mesenchymal transition of human non-small cell lung cancer by regulating miR-30a activity. *Eur J Cell Biol*, 2015, 94(1): 22–31. [DOI]
- [10] Yang J, Li T, Gao C, Lv XB, Liu KM, Song H, Xing YY, Xi T. FOXO1 3'UTR functions as a ceRNA in repressing the metastases of breast cancer cells via regulating miRNA activity. *FEBS Lett*, 2014, 588(17): 3218–3224. [DOI]
- [11] Lee DY, Shatseva T, Jeyapalan Z, Du WW, Deng ZQ, Yang BB. A 3'-untranslated region (3'UTR) induces organ adhesion by regulating miR-199a* functions. *PLoS One*, 2009, 4(2): e4527. [DOI]
- [12] Lee DY, Jeyapalan Z, Fang L, Yang J, Zhang Y, Yee AY, Li MH, Du WW, Shatseva T, Yang BB. Expression of versican 3'-untranslated region modulates endogenous microRNA functions. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13599. [DOI]
- [13] Zhao RB, Qian LJ, Jiang L. miRNA-dependent cross-talk between VEGF and Ang-2 in hypoxia-induced micro-vascular dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 452(3): 428–435. [DOI]
- [14] D'Errico I, Gadaleta G, Saccone C. Pseudogenes in metazoa: origin and features. *Brief Funct Genomic Proteomic*, 2004, 3(2): 157–167. [DOI]
- [15] Poliseno L. Pseudogenes: newly discovered players in human cancer. *Sci Signal*, 2012, 5(242): re5. [DOI]
- [16] Kalyana-Sundaram S, Kumar-Sinha C, Shankar S, Robinson DR, Wu YM, Cao XH, Asangani IA, Kothari V, Prensner JR, Lonigro RJ, Iyer MK, Barrette T, Shanmugam A, Dhanasekaran SM, Palanisamy N, Chinnaiyan AM. Expressed pseudogenes in the transcriptional landscape of human cancers. *Cell*, 2012, 149(7): 1622–1634. [DOI]
- [17] Tay Y, Rinn J, Pandolfi PP. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition. *Nature*, 2014, 505(7483): 344–352. [DOI]
- [18] Mitrovich QM, Anderson P. mRNA surveillance of expressed pseudogenes in *C. elegans*. *Curr Biol*, 2005, 15(10): 963–967. [DOI]
- [19] Wang L, Guo ZY, Zhang R, Xin B, Chen R, Zhao J, Wang T, Wen WH, Jia LT, Yao LB, Yang AG. Pseudogene OCT4-pg4 functions as a natural micro RNA sponge to regulate OCT4 expression by competing for miR-145 in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*, 2013, 34(8): 1773–1781. [DOI]
- [20] Peng HR, Ishida M, Li L, Saito A, Kamiya A, Hamilton JP, Fu RD, Olaru AV, An FM, Popescu I, Iacob R, Dima S, Alexandrescu ST, Grigorie R, Nastase A, Berindan-Neagoe I, Tomuleasa C, Graur F, Zaharia F, Torbenson MS, Mezey E, Lu MQ, Selaru FM. Pseudogene INTS6P1 regulates its cognate gene INTS6 through competitive binding of miR-17-5p in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 2015, 6(8): 5666–5677. [DOI]
- [21] Quinodoz S, Guttman M. Long noncoding RNAs: an emerging link between gene regulation and nuclear organization. *Trends Cell Bio*, 2014, 24(11): 651–663. [DOI]
- [22] Yang L, Froberg JE, Lee JT. Long noncoding RNAs: fresh perspectives into the RNA world. *Trends Biochem Sci*, 2014, 39(1): 35–43. [DOI]
- [23] Necșulea A, Soumillon M, Warnefors M, Liechti A, Daish T, Zeller U, Baker JC, Grutzner F, Kaessmann H. The evolution of lncRNA repertoires and expression patterns in tetrapods. *Nature*, 2014, 505(7485): 635–640. [DOI]
- [24] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell*, 2009, 136(4): 629–641. [DOI]

- [25] Guo G, Kang Q, Zhu X, Chen Q, Wang X, Chen Y, Ouyang J, Zhang L, Tan H, Chen R, Huang S, Chen JL. A long noncoding RNA critically regulates Bcr-Abl-mediated cellular transformation by acting as a competitive endogenous RNA. *Oncogene*, 2015, 34(14): 1768–1779. [\[DOI\]](#)
- [26] Wang JY, Liu XF, Wu HC, Ni PH, Gu ZD, Qiao YX, Chen N, Sun FY, Fan QS. CREB up-regulates long non-coding RNA, HULC expression through interaction with microRNA-372 in liver cancer. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(16): 5366–5383. [\[DOI\]](#)
- [27] Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, Santini T, Sthandier O, Chinappi M, Tramontano A, Bozzoni I. A long non-coding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA. *Cell*, 2011, 147(2): 358–369. [\[DOI\]](#)
- [28] Kallen AN, Zhou XB, Xu J, Qiao C, Ma J, Yan L, Lu LG, Liu CC, Yi JS, Zhang HF, Min W, Bennett AM, Gregory RI, Ding Y, Huang YQ. The imprinted H19 lncRNA antagonizes let-7 microRNAs. *Mol Cell*, 2013, 52(1): 101–112. [\[DOI\]](#)
- [29] Roush S, Slack FJ. The let-7 family of microRNAs. *Trends Cell Biol*, 2008, 18(10): 505–516. [\[DOI\]](#)
- [30] Salzman J, Gawad C, Wang PL, Lacayo N, Brown PO. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30733. [\[DOI\]](#)
- [31] Jeck WR, Sharpless NE. Detecting and characterizing circular RNAs. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(5): 453–461. [\[DOI\]](#)
- [32] Conn SJ, Pillman KA, Toubia J, Conn VM, Salmanidis M, Phillips CA, Roslan S, Schreiber AW, Gregory PA, Goodall GJ. The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs. *Cell*, 2015, 160(6): 1125–1134. [\[DOI\]](#)
- [33] Li JQ, Yang J, Zhou P, Le YP, Zhou CW, Wang SM, Xu DZ, Lin HK, Gong ZH. Circular RNAs in cancer: novel insights into origins, properties, functions and implications. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(2): 472–480. [\[DOI\]](#)
- [34] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, Bramsen JB, Finsen B, Damgaard CK, Kjems J. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*, 2013, 495(7441): 384–388. [\[DOI\]](#)
- [35] Memczak S, Jens M, Elefsinioti A, Torti F, Krueger J, Rybak A, Maier L, Mackowiak SD, Gregersen LH, Munschauer M, Loewer A, Ziebold U, Landthaler M, Kocks C, le Noble F, Rajewsky N. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency. *Nature*, 2013, 495(7441): 333–338. [\[DOI\]](#)
- [36] Reddy SDN, Ohshiro K, Rayala SK, Kumar R. MicroRNA-7, a homeobox D10 target, inhibits p21-activated kinase 1 and regulates its functions. *Cancer Res*, 2008, 68(20): 8195–8200. [\[DOI\]](#)
- [37] Junn E, Lee KW, Jeong BS, Chan TW, Im JY, Mouradian MM. Repression of alpha-synuclein expression and toxicity by microRNA-7. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(31): 13052–13057. [\[DOI\]](#)
- [38] Capel B, Swain A, Nicolis S, Hacker A, Walter M, Koopman P, Goodfellow P, Lovell-Badge R. Circular transcripts of the testis-determining gene *Sry* in adult mouse testis. *Cell*, 1993, 73(5): 1019–1030. [\[DOI\]](#)
- [39] Granados-Riveron JT, Aquino-Jarquín G. Does the linear *Sry* transcript function as a ceRNA for miR-138? The sense of antisense. *F1000Res*, 2014, 3: 90. [\[DOI\]](#)
- [40] Liang DM, Wilusz JE. Short intronic repeat sequences facilitate circular RNA production. *Genes Dev*, 2014, 28(20): 2233–2247. [\[DOI\]](#)
- [41] Wilusz JE, Sharp PA. Molecular biology. A circuitous route to noncoding RNA. *Science*, 2013, 340(6131): 440–441. [\[DOI\]](#)
- [42] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, Slevin MK, Burd CE, Liu JZ, Marzluff WF, Sharpless NE. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats. *RNA*, 2013, 19(2): 141–157. [\[DOI\]](#)
- [43] Westholm JO, Miura P, Olson S, Shenker S, Joseph B, Sanfilippo P, Celniker SE, Graveley BR, Lai EC. Genome-wide analysis of *Drosophila* circular RNAs reveals their structural and sequence properties and age-dependent neural accumulation. *Cell Rep*, 2014, 9(5): 1966–1980. [\[DOI\]](#)
- [44] Ala U, Karreth FA, Bosia C, Pagnani A, Tauli R, Leopold V, Tay Y, Provero P, Zecchina R, Pandolfi PP. Integrated transcriptional and competitive endogenous RNA networks are cross-regulated in permissive molecular environments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(18): 7154–7159. [\[DOI\]](#)
- [45] Tay Y, Karreth FA, Pandolfi PP. Aberrant ceRNA activity drives lung cancer. *Cell Res*, 2014, 24(3): 259–260. [\[DOI\]](#)
- [46] Maas S. Posttranscriptional recoding by RNA editing. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2012, 86: 193–224. [\[DOI\]](#)
- [47] Mayr C, Bartel DP. Widespread shortening of 3'UTRs by alternative cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells. *Cell*, 2009, 138(4): 673–684. [\[DOI\]](#)
- [48] Sanchez-Diaz P, Penalva LOF. Post-transcription meets post-genomic: the saga of RNA binding proteins in a new

- era. *RNA Biol*, 2006, 3(3): 101–109. [DOI]
- [49] Srikantan S, Tominaga K, Gorospe M. Functional interplay between RNA-binding protein HuR and micro-RNAs. *Curr Protein Pept Sci*, 2012, 13(4): 372–379. [DOI]
- [50] Merino EJ, Wilkinson KA, Coughlan JL, Weeks KM. RNA structure analysis at single nucleotide resolution by selective 2'-hydroxyl acylation and primer extension (SHAPE). *J Am Chem Soc*, 2005, 127(12): 4223–4231. [DOI]
- [51] Bhattacharyya SN, Habermacher R, Martine U, Closs EI, Filipowicz W. Relief of microRNA-mediated translational repression in human cells subjected to stress. *Cell*, 2006, 125(6): 1111–1124. [DOI]
- [52] Epis MR, Barker A, Giles KM, Beveridge DJ, Leedman PJ. The RNA-binding protein HuR opposes the repression of *ERBB-2* gene expression by microRNA miR-331-3p in prostate cancer cells. *J Biol Chem*, 2011, 286(48): 41442–41454. [DOI]
- [53] Srikantan S, Abdelmohsen K, Lee EK, Tominaga K, Subaran SS, Kuwano Y, Kulshrestha R, Panchakshari R, Kim HH, Yang XL, Martindale JL, Marasa BS, Kim MM, Wersto RP, Indig FE, Chowdhury D, Gorospe M. Translational control of TOP2A influences doxorubicin efficacy. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(18): 3790–3801. [DOI]
- [54] Tominaga K, Srikantan S, Lee EK, Subaran SS, Martindale JL, Abdelmohsen K, Gorospe M. Competitive regulation of nucleolin expression by HuR and miR-494. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(20): 4219–4231. [DOI]
- [55] Young LE, Moore AE, Sokol L, Meisner-Kober N, Dixon DA. The mRNA stability factor HuR inhibits micro-RNA-16 targeting of COX-2. *Mol Cancer Res*, 2012, 10(1): 167–180. [DOI]
- [56] Kim HH, Kuwano Y, Srikantan S, Lee EK, Martindale JL, Gorospe M. HuR recruits let-7/RISC to repress c-Myc expression. *Genes Dev*, 2009, 23(15): 1743–1748. [DOI]
- [57] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 2009, 136(2): 215–233. [DOI]
- [58] Sumazin P, Yang XR, Chiu HS, Chung WJ, Iyer A, Llobet-Navas D, Rajbhandari P, Bansal M, Guarnieri P, Silva J, Califano A. An extensive microRNA-mediated network of RNA-RNA interactions regulates established oncogenic pathways in glioblastoma. *Cell*, 2011, 147(2): 370–381. [DOI]

(责任编辑: 方向东)