

赵俞乔,关沧海,吴昊天,等. 睾丸发育相关基因 1 在肿瘤中的效应和机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10): 117-120.
Zhao YQ, Guan CH, Wu HT, et al. Effects of the lncRNA *TDRG1* and their underlying mechanisms in tumors [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(10): 117-120.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020. 10. 017

睾丸发育相关基因 1 在肿瘤中的效应和机制

赵俞乔,关沧海,吴昊天,胡增涛,姜兴明*

(哈尔滨医科大学附属第二医院普通外科,哈尔滨 150086)

【摘要】 长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是 RNA 分子中的一个新类型,它广泛参与肿瘤发生发展的过程。睾丸发育相关基因 1(testis developmental related gene 1, *TDRG1*)作为一种长链非编码 RNA,在诸多人类肿瘤中呈现异常表达并通过不同机制影响肿瘤增殖、侵袭转移且与患者的预后密切相关。本文对 *TDRG1* 在肿瘤中的生物学效应和分子机制进行综述。

【关键词】 长链非编码 RNA;睾丸发育相关基因 1;肿瘤;调控机制

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 10-0117-04

Effects of the lncRNA *TDRG1* and their underlying mechanisms in tumors

ZHAO Yuqiao, GUAN Canghai, WU Haotian, HU Zengtao, JIANG Xingming*

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

【Abstract】 Long non-coding RNAs (lncRNA) are a novel class of RNA molecules that are extensively involved in tumor development and progression. The testis developmental related gene 1 (*TDRG1*) lncRNA is aberrantly expressed in a variety of cancers, influences tumor proliferation, invasion, and metastasis by different mechanisms, and is closely correlated with patient prognosis. In this paper, we will review the biological effects of *TDRG1* on tumors and the underlying molecular mechanisms.

【Keywords】 lncRNA; *TDRG1*; tumors; regulatory mechanisms

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度超过 200 bp 的非编码调控 RNA 分子,因其缺乏开放性阅读框而不具备或仅具备有限的蛋白质编码能力,曾被认为是基因转录的“噪音”^[1]。近年来长链非编码 RNA 相关的生理功能逐渐被阐明,越来越多的证据表明其参与染色质重塑、转录后调控、蛋白质翻译和组蛋白乙酰化等诸多生物学进程,并在多种人体恶性肿瘤中异常表达且与肿瘤细胞增殖及侵袭转移密切相关^[2-4]。睾丸发育相关基因 1 (testis developmental related gene

1, *TDRG1*)是一个长度为 1939 nt 的 lncRNA,定位于人类染色体 6p21.2 区域,能够编码 100 个不具备任何已知蛋白结构域的氨基酸;最初认为该基因是一种仅在睾丸组织中表达的睾丸特异表达基因并推测其功能与精子发生相关^[5-6]。目前研究表明:*TDRG1* 不仅在再生障碍性贫血中发挥作用^[7],并且在多种恶性肿瘤中呈现异常表达,对肿瘤诊断、治疗和预后评估等方面有潜在的应用前景。本文就 *TDRG1* 在肿瘤发生发展中的生物学效应和分子机制作一综述。

【基金项目】 国家自然科学基金(81602088)。

【作者简介】 赵俞乔(1997—),男,硕士生,主要从事长链非编码 RNA 与肿瘤研究。E-mail: yqzhao0304@163.com

【通信作者】 姜兴明(1986—),男,博士,副教授,硕士生导师,主要从事肝胆胰肿瘤与非编码 RNA 研究。E-mail: xmjiang@hrbmu.edu.cn

1 *TDRG1* 与恶性肿瘤

1.1 *TDRG1* 与宫颈癌

宫颈癌是全球癌症相关死亡的第三大原因^[8-9]。范阳等^[10]利用实时荧光定量聚合酶反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 对 60 例宫颈癌患者肿瘤组织和邻近正常组织中的 *TDRG1* 表达进行检测, 结果显示 *TDRG1* 的表达在宫颈癌组织中呈明显上调; *TDRG1* 表达情况与临床数据的分析结果表明 *TDRG1* 的高水平表达与癌肿分化程度及淋巴结转移密切相关; Kaplan-Meier 和 log-rank 分析证实 *TDRG1* 过表达患者的总体预后更差; 多因素分析证明高表达 *TDRG1* 是宫颈癌患者预后不良的危险因素^[10]。在上述研究的基础上, Zhao 等^[11]同样发现 *TDRG1* 在宫颈癌中的异常高表达; 并利用小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 在克隆形成实验、MTT 及 Transwell 实验中敲低 *TDRG1* 的表达后发现宫颈癌的增殖和迁移侵袭受到明显抑制。流式细胞术结果显示对照组细胞凋亡率由 12.80% 增加至 36.8%, 而 siRNA 处理的实验组细胞凋亡率由 33.5% 增加至 53%, 细胞凋亡率明显提高且细胞周期被阻滞于 G1 期。生物信息学分析、qRT-PCR 检测和双荧光素酶实验结果表明 *TDRG1* 与 miR-330-5p 间存在特异性结合位点 (GUCCCAGAG) 且两者表达水平呈负相关 ($R = 5.119$, $P < 0.0001$), miR-330-5p 抑制剂能够部分逆转 *TDRG1* siRNA 对宫颈癌进展的影响。Western blot 结果显示: miR-330-5p 靶基因 *ELK1* (ETS transcription factor *ELK1*) 的表达与 *TDRG1* 呈正相关而与 miR-330-5p 呈负相关。上述实验结果提示: *TDRG1* 通过充当 miR-330-5p 的竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 上调促癌基因 *ELK1* 的表达来促进宫颈癌的恶性进程。此外, Jiang 等^[12]的研究表明 *TDRG1* 的高水平表达与 FIGO (international federation of gynecology and obstetrics) 分期以及癌肿浸润深度密切相关, 同时发现 *TDRG1* 的另一海绵吸附靶点 miR-326; 进一步研究发现, miR-326 能与促癌基因 *MAPK1* 的 3'-UTR (untranslated region) 相结合, 抑制 *TDRG1* 可降低 *MAPK1* (mitogen-activated protein kinase 1) 的表达, 即 *TDRG1* 能够通过 *TDRG1*/miR-326/*MAPK1* 轴调节宫颈癌的发生和发展。

1.2 *TDRG1* 与上皮性卵巢癌

研究指出 lncRNAs 在上皮性卵巢癌 (epithelial ovarian carcinoma, EOC) 中的作用与机制对肿瘤治疗和患者预后评估有重要作用^[13-15]。Chen 等^[16]利用 qRT-PCR 定量检测 95 例上皮性卵巢癌患者的组织样本后发现: 相比于正常卵巢组织, EOC 肿瘤组织内 *TDRG1* 呈明显上调, 并且其表达水平与肿瘤的分化程度密切相关 ($P = 0.043$)。体外细胞实验中构建质粒表达载体外源性上调 *TDRG1* 能够促进肿瘤细胞的增殖和迁移侵袭能力并抑制细胞凋亡发生, 利用 siRNA 干扰 *TDRG1* 的表达则会得到与上述相反的结果。生物信息学预测和双荧光素酶报告实验证实 *TDRG1* 与 miR-93 之间存在结合位点, 并且两者在肿瘤组织内的表达水平呈负相关; Western blot 实验结果显示 *TDRG1* 能够上调 miR-93 靶基因肿瘤转移关键基因 *RhoC* (ras homolog family member C) 及 *RhoC* 下游因子 (P70S6K、Bcl-xL、MMP-2) 的表达进而促进 EOC 的侵袭转移。

1.3 *TDRG1* 与子宫内膜癌

近年来子宫内膜癌的发病率由于肥胖症和代谢性疾病患者增加而趋于年轻化^[17]。Sun 等^[18]的研究证实在子宫内膜癌肿瘤组织和肿瘤细胞中 *TDRG1* 呈上调表达, 利用 siRNA 外源性沉默 *TDRG1* 表达能够抑制肿瘤细胞的增殖和迁移侵袭, 并且发生凋亡的细胞比例明显升高。Western blot 检测结果表明在肿瘤细胞中转染 siRNA 后与肿瘤侵袭和转移密切相关的 *MMP-2* (matrix metalloproteinase 2) 和 *MMP-9* (matrix metalloproteinase 9) 表达降低, 同时抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 并诱导细胞凋亡标志物 Bax 和裂解型 caspase3 的表达; *TDRG1* 过表达能够上调肿瘤细胞中 p-pi3k、p-AKT 和 p-mTOR 的蛋白表达水平而外源性沉默 *TDRG1* 后上述蛋白表达下降, 这提示 PI3K/AKT/mTOR 信号通路参与 *TDRG1* 对子宫内癌膜恶性生物学行为的调控。进一步的 RIP (RNA binding protein immunoprecipitation) 和 Western blot 实验结果表明: *TDRG1* 能够直接与 *VEGF-A* (vascular endothelial growth factor A) 结合并促进其表达, 高表达 *VEGF-A* 通过上调抗凋亡蛋白 PI3K、Bcl-2、MMP-2 和 survivin 的表达从而发挥促癌作用。综上, *TDRG1* 可以调控 *VEGF-A* 和相关基因的表达来促进子宫内膜癌的增殖和迁移侵袭^[19]。

1.4 *TDRG1* 与胃癌

胃癌是全世界最常见的恶性肿瘤,也是癌症致患者死亡的主要原因^[20-21]。Ma 等^[22]利用 qRT-PCR 测定 42 例胃癌患者肿瘤组织和癌旁正常组织中 *TDRG1* 的表达水平,结果显示胃癌组织中 *TDRG1* 呈显著高表达;根据 *TDRG1* 表达水平将胃癌患者分为 *TDRG1* 高表达组和 *TDRG1* 低表达组,同时对胃癌患者的临床病理数据进行统计学分析,数据结果发现 *TDRG1* 高表达与肿瘤的临床分期、远处转移及患者较差的预后密切相关。随后的体外细胞实验,通过 MTT、细胞划痕实验和 Transwell 实验检测,结果表明上调 *TDRG1* 表达后胃癌肿瘤细胞 SGC-7901 和 MGC-803 的增殖及迁移侵袭能力明显提高;在裸鼠成瘤实验中过表达 *TDRG1* 的体内移植瘤的生长速度加快。生物信息学分析和 RNA 免疫沉淀实验证实 *TDRG1* 可以海绵吸附抑癌基因 miR-873-5p 来降低其表达;双荧光素酶实验证实 miR-873-5p 与促癌基因 *HDGF* (heparin binding growth factor) 间存在靶向结合调控关系,定量检测结果显示胃癌肿瘤组织内两者表达呈负相关。综上,胃癌中高表达的 *TDRG1* 通过对 miR-873-5p/*HDGF* 轴的调控来促进肿瘤的恶性生物学行为。

1.5 *TDRG1* 与非小细胞肺癌

肺癌占有所有肿瘤的 19.4%,而非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占有肺癌病例的近 80%^[23-24]。Hu 等^[25]收集了 34 例非小细胞肺癌的病理组织样本,利用 qRT-PCR 检测发现 *TDRG1* 在 NSCLC 组织中的表达与癌旁组织相比显著提高。MTT 实验结果显示 *TDRG1* 的特异性 siRNA 转染 A549 和 H1975 细胞后,肿瘤细胞的增殖受到明显抑制,而过表达 *TDRG1* 能促进非小细胞肺癌细胞的生长。细胞划痕实验和 Transwell 实验证实沉默肿瘤细胞内 *TDRG1* 的表达能够明显抑制细胞迁移和侵袭转移。Western blot 实验发现肿瘤细胞内 *TDRG1* 的表达与 E-cadherin 呈负相关而与 N-cadherin 呈正相关,这表明 *TDRG1* 能够促进上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)进程。进一步实验证实 miR-206 与 *TDRG1* 的 3'-UTR 存在 10 个互补序列同时与 *ZEB1* (zinc finger e-box binding homeobox 1) 也存在特异性结合位点;上述实验研究结果提示 *TDRG1* 能够通过靶向结合 miR-206 进而上调促癌基因 *ZEB1* 的表达。

2 结语及展望

TDRG1 作为一种新发现的 lncRNA,其在肿瘤内功能的相关研究尚处于初始阶段,不同肿瘤内 *TDRG1* 的异常表达水平以及更深层面的调控机制有待于后续的进一步探索。相信随着实验技术的发展,*TDRG1* 在肿瘤发生发展中作用机制的相关研究将更加深入,并且为肿瘤的早期诊断、综合治疗及患者预后评估指明新的方向。

参考文献:

- [1] Qian X, Zhao J, Yeung PY, et al. Revealing lncRNA structures and interactions by sequencing-based approaches [J]. Trends Biochem Sci, 2019, 44(1): 33-52.
- [2] Engreitz JM, Haines JE, Perez EM, et al. Local regulation of gene expression by lncRNA promoters, transcription and splicing [J]. Nature, 2016, 539(7629): 452-455.
- [3] Dhir A, Dhir S, Proudfoot NJ, et al. Microprocessor mediates transcriptional termination of long noncoding RNA transcripts hosting microRNAs [J]. Nat Struct Mol Biol, 2015, 22(4): 319-327.
- [4] 金亮, 金爱, 赵立智. 长链非编码 RNA LINC00152 对人脑胶质瘤裸鼠移植瘤生长的影响及机制探讨 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(11): 28-33, 49.
- [5] Jiang X, Li D, Yang J, et al. Characterization of a novel human testis-specific gene: testis developmental related gene 1 (*TDRG1*) [J]. Tohoku J Exp Med, 2011, 225(4): 311-318.
- [6] Chen H, Sun J, He Y, et al. Expression and localization of testis developmental related gene 1 (*TDRG1*) in human spermatozoa [J]. Tohoku J Exp Med, 2015, 235(2): 103-109.
- [7] Jiang S, Xia M, Yang J, et al. Novel insights into a treatment for aplastic anemia based on the advanced proliferation of bone marrow derived mesenchymal stem cells induced by fibroblast growth factor 1 [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(6): 7877-7882.
- [8] 杜珍, 陈志美, 周道秋, 等. siRNA 沉默 *MACC1* 基因表达对宫颈癌细胞增殖及侵袭的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(10): 80-84.
- [9] Kim JJ, Campos NG, Sy S, et al. Inefficiencies and high-value improvements in US cervical cancer screening practice a cost-effectiveness analysis [J]. Ann of Intern Med, 2015, 163(8): 589-597.
- [10] 范阳, 李洁, 张忠明, 等. 长链非编码 RNA-*TDRG1* 高表达对宫颈癌临床进展及预后不良的影响 [J]. 西安交通大学学报(医学版), 2019, 40(6): 888-892.
- [11] Zhao H, Hu GM, Wang WL, et al. lncRNA *TDRG1* functions as an oncogene in cervical cancer through sponging miR-330-5p to modulate ELK1 expression [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(17): 7295-7306.
- [12] Jiang H, Liang M, Jiang Y, et al. The lncRNA *TDRG1* promotes cell proliferation, migration and invasion by targeting miR-326 to

- regulate MAPK1 expression in cervical cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 152.
- [13] 周原世, 高泽玮, 黄荣菊, 等. 恶性肿瘤发生发展中小核仁 RNA 宿主基因 15 的作用及机制 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2019, 33(10): 1029–1032.
- [14] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(1): 5–29.
- [15] Feng Z, Wen H, Bi R, et al. Prognostic impact of the time interval from primary surgery to intravenous chemotherapy in high grade serous ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 141(3): 466–470.
- [16] Chen S, Wang LL, Sun KX, et al. The role of the long non-coding RNA *TDRG1* in epithelial ovarian carcinoma tumorigenesis and progression through miR-93/RhoC pathway [J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(2): 225–234.
- [17] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(1): 7–34.
- [18] Sun R, Sun X, Liu H, et al. Knockdown of lncRNA *TDRG1* inhibits tumorigenesis in endometrial carcinoma through the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 10863–10872.
- [19] Chen S, Wang LL, Sun KX, et al. *TDRG1* enhances tumorigenicity in endometrial carcinoma by binding and targeting VEGF-A protein [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(9): 3013–3021.
- [20] Nasrollahzadeh-Khakiani M, Emadi-Baygi M, Schulz WA, et al. Long noncoding RNAs in gastric cancer carcinogenesis and metastasis [J]. *Brief Funct Genomics*, 2017, 16(3): 129–145.
- [21] 张永海. 汉黄芩素体外对胃癌 SGC-7901 细胞增殖、迁移和侵袭的实验性研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(2): 89–95.
- [22] Ma Y, Xu XL, Huang HG, et al. LncRNA *TDRG1* promotes the aggressiveness of gastric carcinoma through regulating miR-873-5p/HDGF axis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109425.
- [23] 胡增涛, 徐书婉, 夏浩明, 等. KCNQ10T1 在肿瘤中的表达及意义 [J]. *实用药物与临床*, 2019, 22(11): 1226–1229.
- [24] Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments [J]. *Lancet*, 2017, 389(10066): 299–311.
- [25] Hu X, Mu Y, Wang J, et al. LncRNA *TDRG1* promotes the metastasis of NSCLC cell through regulating miR-873-5p/ZEB1 axis [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 10: 1002
- [收稿日期]2020-02-17

(上接第 36 页)

- [12] Wang W, Li D, Sui G. YY1 is an inducer of cancer metastasis [J]. *Crit Rev Oncog*, 2017, 22(1–2): 1–11.
- [13] Prestipino A, Emhardt AJ, Aumann K, et al. Oncogenic JAK2 V617F causes PD-L1 expression, mediating immune escape in myeloproliferative neoplasms [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(429): 7729–7741.
- [14] 张伟, 徐国祥, 李佳嘉, 等. PD-1/PD-L1 在三阴性乳腺癌中的表达及其意义 [J]. *中华病理学杂志*, 2017, 46(1): 20–24.
- [15] 李巧转, 李嫻. PD-L1 在人胶质瘤中的表达及其对肿瘤内浸润性 T 细胞凋亡的影响 [J]. *重庆医学*, 2018, 47(1): 37–39, 42.
- [16] Kleffel S, Posch C, Barthel SR, et al. Melanoma cell-intrinsic PD-1 receptor functions promote tumor growth [J]. *Cell*, 2015, 162(6): 1242–1256.
- [17] Zhang Y, Wang Y, Li MQ, et al. IL-25 promotes Th2 bias by upregulating IL-4 and IL-10 expression of decidual $\gamma\delta$ T cells in early pregnancy [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(2): 1855–1862.
- [18] Wang Q, He H, Chen D, et al. Hepatic stroma-educated regulatory DCs suppress CD8⁺ T cell proliferation in mice [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(55): 93414–93425.
- [收稿日期]2020-03-20