

A hosszú, nem kódoló RNS-ek jelentősége a daganatbiológiában

Nagy Zoltán oh.¹ ■ Szabó Diána Rita¹ ■ Zsippai Adrienn¹
Falus András dr.² ■ Rácz Károly dr.¹ ■ Igaz Péter dr.¹

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, ¹II. Belgyógyászati Klinika,
²Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

Az utóbbi évek molekuláris biológiai kutatásainak egyik legjelentősebb fejleménye a nem kódoló RNS-molekulák biológiai jelentőségének felismerése volt. Kiderült, hogy a genom 98%-át kitevő nem kódoló rész jelentékeny része átíródik. A kisméretű RNS-ek (például mikroRNS-ek) mellett mind több adat ismert a 200 nukleotidtól 100 kilobázisig terjedő méretű hosszú, nem kódoló RNS-ekről, amelyek számos alapvető molekuláris folyamat (sejtosztódás, kromatinműködés, mikroRNS-hatás stb.) szabályozásában játszanak szerepet. E hosszú, nem kódoló RNS-ek közül többet kapcsolatba hoztak humán daganatok kialakulásával, így a H19, HOTAIR, MALAT1 stb. eltérő kifejeződését észlelték daganatokban az egészséges szövetekhez képest. A hosszú, nem kódoló RNS-ek a molekuláris diagnosztika új lehetőségeit képviselhetik, és akár a jövőben a terápiás beavatkozás célpontjai is lehetnek. *Orv. Hetil.*, 2012, *153*, 1494–1501.

Kulcsszavak: genom, hosszú, nem kódoló RNS, daganat, mikroRNS

Relevance of long non-coding RNAs in tumour biology

The discovery of the biological relevance of non-coding RNA molecules represents one of the most significant advances in contemporary molecular biology. It has turned out that a major fraction of the non-coding part of the genome is transcribed. Beside small RNAs (including microRNAs) more and more data are disclosed concerning long non-coding RNAs of 200 nucleotides to 100 kb length that are implicated in the regulation of several basic molecular processes (cell proliferation, chromatin functioning, microRNA-mediated effects, etc.). Some of these long non-coding RNAs have been associated with human tumours, including H19, HOTAIR, MALAT1, etc., the different expression of which has been noted in various neoplasms relative to healthy tissues. Long non-coding RNAs may represent novel markers of molecular diagnostics and they might even turn out to be targets of therapeutic intervention. *Orv. Hetil.*, 2012, *153*, 1494–1501.

Keywords: genome, long non-coding RNA, tumour, microRNA

(Beérkezett: 2012. augusztus 6.; elfogadva: 2012. augusztus 23.)

Rövidítések

ANRIL = antisense non-coding RNA in the INK4 locus; hncRNS = hosszú, nem kódoló RNS; GAS5 = growth-arrest specific 5; HIF1 α = hypoxia indukálta faktor 1 α ; HOTAIR = HOX antisense intergenic RNA; HULC = highly upregulated in liver cancer; IGF-2 = inzulinszerű növekedési faktor 2-es típusa; MALAT1 = metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1; miRISC = (microRNA-induced silencing complex) mikroRNS indukálta csendesítő komplex; mRNS =

hírvívő RNS; PCA3 = prostate cancer gene 3; PRC = polycomb repressor complex; PTEN = phosphatase and tensin homolog; RNS = ribonukleinsav; siRNS = (short interfering RNA) rövid interferáló RNS; SNP = (single nucleotide polymorphism) egy nukleotidot érintő polimorfizmus; SRA = szteroidreceptor RNS-aktivátor; TERC = telomerase RNA component; TERRA = telomeric repeat-containing RNA; TERT = telomerase reverse transcriptase; XIST = X inactive specific transcript

Az utóbbi években a molekuláris biológia területén radikálisan új kutatási irányok megjelenésének lehettünk tanúi. Ezek között kiemelkedő jelentőségűnek tartható a ribonukleinsavak (RNS) világának új értelmezése, amiben új szabályozási mechanizmusok a genom, sejtek és a szervezet működésének eddig ismeretlen aspektusainak feltárásához vezettek [1, 2]. Ismereteink bővülésében kiemelkedő jelentőségű a módszertani repertoár nagyarányú fejlődése és a bioinformatikai módszerek mind szélesebb körű felhasználása.

A korábban elsődleges jelentőségűnek gondolt fehérjét kódoló hírvivő RNS-ek (mRNS) mellett egyre nagyobb jelentőséget tulajdonítanak a fehérjéket nem kódoló RNS-eknek. E molekulák molekuláris mechanizmusában a nukleotidszekvencia-változással nem járó epigenetikai utak elsődleges szerepet játszanak. A nem kódoló RNS-ek között mind több adat lát napvilágot a kisméretű RNS-ek jelentőségéről, amelyek közül kiemelendők a mikroRNS-ek, amelyek érett formájukban 18–24 nukleotidhosszúságú egyláncú RNS-molekulák és a hírvivő RNS-ek (mRNS) 3' nem transzlálódó végéhez kötődve azok lebomlását vagy transzlációjának gátlását eredményezhetik. A mikroRNS-ek a posztranszkripció szabályozás alapvető elemei. Eltérő kifejeződésüket számos betegségben leírták, és jelentőségük a daganatokban meghatározónak tűnik [3]. A mikroRNS-ek mellett számos más kisméretű RNS-molekula is ismert, amelyek alapvető molekuláris folyamatok, például az mRNS-ek érésében szereplő splicing, a telomerek fenntartása, a centromer működése, illetve a genom stabilitásának fenntartásában meghatározó jelentőségűek. A molekuláris biológia korábban érvényes „centrális dogmája” több szempontból is megdőlni látszik, és az RNS-ek szerepe a sejt és genom működésének szabályozásában számos szinten kimutatható [2].

A mikroRNS-eket kódoló gének számottevő része a genom nem kódoló részében helyezkedik el. Több megfigyelés utal arra, hogy a genom körülbelül 98%-át kitevő nem kódoló, korábban „szemét” (junk) névvel is illetett része egyáltalán nem felesleges, hanem alapvető szabályozási elemeket tartalmaz. A genom fehérjéket kódoló régiója, amely a teljes genom mindössze 2%-át alkotja, a nem kódoló, „sötét” régióknak csak töredékét képezi [4]. Míg a kódoló régióban az ember és legközelebbi állatvilágbeli rokona, a törpecsimpánz között több mint 98%-os a nukleotidszekvencia szintjén az egyezés, a nem kódoló részben az egyezés jóval kisebb mértékű [5]. Ez alapján akár azt is mondhatjuk, hogy nem a fehérjéket kódoló rész, hanem a nem kódoló rész tesz minket emberré.

A genom nem kódoló, „sötét” régiójának jelentőségét csak mostanában kezdjük megismerni. E sötét régió talán párhuzamba állítható a világegyetem megismerésének jelenlegi állapotával, ahol szintén egy nagyrészt ismeretlen „sötét anyag” problémájával szembesülnek a téma kutatói.

A molekuláris biológiai kutatásokat forradalmasító új generációs szekvenálási módszerek (deep sequencing) egyik legmegdöbbentőbb eredménye az volt, hogy a genom nem kódoló részének jelentékeny része (70–90%-a) RNS-sé átíródik [6, 7], vagyis a nem kódoló rész egyáltalán nem passzív rész, hanem aktív, és bizonyára funkcióval is rendelkezik. Az egérgenomából átíródó RNS-összesség (transzkriptom) például körülbelül 180 000 RNS-molekulából állhat, de ebből mindössze 20 000 kódol fehérjét [1]. A többséget kitevő nem kódoló RNS-ek funkciója jelenleg még nagyrészt ismeretlen.

A nem kódoló RNS-molekulákat alapvetően két csoportba oszthatjuk. A már fent említett kisméretű RNS-ek (mikroRNS-ek, transzfer RNS-ek, PIWI-asszociált RNS-ek, telomerhez kapcsolódó RNS-ek, promoterhez kapcsolódó RNS-ek, kis nucleolaris RNS-ek stb.) mellett megkülönböztetik a hosszú, nem kódoló RNS-ek csoportját, amelyek mérete 200 nukleotidtól 100 kb-ig terjedhet (1. táblázat). Míg a kisméretű RNS-ekről, különösen a mikroRNS-ekről számos adat ismert már, és működésük részleteiről egyre többet tudunk, a hosszú, nem kódoló RNS-ek jelentőségéről jóval kevesebb adat ismert [7, 8, 9].

Az utóbbi években a hosszú, nem kódoló RNS-ekről (a továbbiakban hnkRNS) számos új és érdekes megfigyelés született, sőt ezeket egyes emberi betegségekkel, így daganatokkal is kapcsolatba hozták. Jelen rövid összefoglaló cikkben e nagyon új és rohamosan fejlődő terület bemutatására teszünk kísérletet. Sajnos, a hivatkozott szakkifejezések jelentős részének egyelőre nincs megfelelő magyar nyelvű megfelelője, ezért kénytelenek voltunk az angol nyelvű terminus technicusokat alkalmazni.

A hnkRNS-ek jellemzői

A hosszú, fehérjét nem kódoló RNS-ek heterogén csoportot alkotnak. Definíció szerint közéjük tartoznak a fehérjeszintézisben alapvető riboszómákat felépítő riboszomális RNS-ek is. Ezen ismert funkciójú RNS-molekulák mellett nagy kihívást jelentenek a további, újonnan felismert hnkRNS-ek, így a hosszú intergénikus, nem kódoló RNS-ek (long intergenic non coding RNA, lincRNA), az átíródó pszeudogének, az átíródó ultrakonzervált régiók, hosszú intronikus RNS-ek, antiszenz RNS-ek stb. A nevezéktan, sajnos, nem egységes. Cikkünkben elsősorban a hosszú intergénikus, nem kódoló RNS-eket tárgyaljuk.

Több hnkRNS biológiai funkcióját leírták már, ami alapján úgy tűnik, hogy alapvető molekuláris biológiai folyamatok szabályozásában játszanak szerepet. Ezek közé tartozik a génexpresszió és genom működésének szabályozása, amelyet mind pozitív, mind negatív irányban képesek befolyásolni, fehérjék, köztük transzkripció faktorok kötése, kromatinstruktúra és -működés befolyásolása. A transzkripcionálisan aktív eukromatin és az inaktív heterokromatin arányának szabályozásában,

1. táblázat | Az RNS-világ főbb szereplőinek bemutatása és rövid jellemzésük

RNS típusa	Rövidítés	Rövid jellemzés
<i>Hírvivő RNS</i>	mRNS	Fehérjék kódolása
Nem kódoló RNS-EK		
<i>Kisméretű RNS-ek</i>		
Transzfer RNS	tRNS	Aminosavak szállítása a fehérjeszintézishez
MikroRNS	miRNS, miR	RNS-interferencia endogén mediátorai, mRNS-lebomlás vagy translációgátlás
Rövid interferáló RNS	siRNS	RNS-interferencia mediátorai
PiWi-szekvenciákkal kapcsolódó RNS	piRNS	Csír sejtek érése, funkciójuk még nem teljesen ismert
Kis nucleolaris RNS	snoRNS	RNS-érés, splicing mechanizmusa
Promoter asszociált kis RNS	pasRNS	A transzkripció szabályozása, epigenetikus szabályozórégiók befolyásolása
Transzkripció iniciációs RNS	tiRNS	Transzkripció szabályozása, iniciáció
Centromer asszociált RNS	crasiRNS	Heterokromatin kialakítása, centromerhez kapcsolódó fehérjék
Telomerspecifikus kis RNS	tel-sRNS	Valószínűleg a telomerek epigenetikus szabályozása
Pyknonok		Jellegzetes genetikai mintázatról átíródó szekvenciák
<i>Hosszú, nem kódoló RNS</i>		
Riboszomális RNS (18S, 28S)	rRNS	Riboszómák felépítése, fehérjeszintézis
Hosszú intergénikus, nem kódoló RNS	lincRNA (long intergenic non coding RNA) – hnkRNS	200 nt – 100 kb, lásd szövegben
Hosszú intronikus, nem kódoló RNS-ek		Intronokban, evolúciósan konzervált, a poszttranszkripcionális géncsendesítésben lehet szerepe
Telomer asszociált nem kódoló RNS-ek	TERRA	Telomeraktivitás negatív szabályozása
Kettős funkciójú nem kódoló RNS-ek		A nem kódoló szabályozófunkció mellett egyes részük fehérjéket is kódolhat
Pszudogénekből átíródó RNS-ek		Génexpresszió szabályozása
Átírt ultrakonzervatív régiók	T-UCR	Élettani funkció nem ismert
Antiszenz RNS-ek	aRNS	Más RNS-ekkel komplementerek, kettős szálú RNS képzése, RNS-interferencia
Promoter asszociált hosszú RNS-ek	PALR	

a hisztonfehérjék módosításában (többek között metilációjában és foszforilációjában) is mind nagyobb jelentőséget tulajdonítanak a hnkRNS-eknek. A hnkRNS-ek e folyamatokban mint molekuláris állványzat vehetnek részt [7]. Egyes hnkRNS-ek mikroRNS-eket köthetnek, miáltal azok hatását befolyásolhatják, ugyanakkor a hosszú, nem kódoló RNS-ek egy része maga is kódol mikroRNS-eket [10]. A hnkRNS-ek az RNS-ek lebomlásában is szerepet játszhatnak. A hnkRNS-ek egy része más szekvenciákkal komplementer antiszenz szekvenciájú, sőt ismert az is, hogy a génexpressziót szabályozó promoterek egy része kétirányú transzkripciót is lehetővé tesz [6]. Az antiszenz hnkRNS komplementer RNS-hez kötődése kétszálú RNS képződéséhez vezethet, ami az RNS-interferencia folyamatának alapvető szubsztrátumát képezi, és a mikroRNS-ekkel közös érési folyamaton keresztül rövid interferáló RNS (short interfering RNA, siRNS) megjelenéséhez vezethet. Az siRNS-ek, endogén megfelelőikhez, a mikroRNS-ekhez

hasonló mechanizmussal vesznek részt a génexpresszió poszttranszkripcionális szintű szabályozásában [6].

Evolúciós szempontból nézve a hnkRNS-ek száma és komplexitása a fejlettebb élőlényekben egyre fokozódik. A nem kódoló RNS-eket kódoló szekvenciák evolúciója gyorsabb lehet a fehérjekódoló szekvenciákhoz képest [9]. Emberben a hnkRNS-ek számát 5000–7000 közöttire becsülik [10], de ez a szám várhatóan a jövőben növekedni fog. A kísérletesen validált és ismert funkciójú hnkRNS-ek száma azonban csak 100 körüli [11].

A genom 20–30%-át ismétlődő (repetitív) elemek alkotják, amelyek között a retrotranszpozonok fontos csoportot képeznek. Ezekről az elemekről szintén átíródnak nem kódoló RNS-ek, sőt az eddig funkció nélkülinek, evolúciós maradványnak gondolt pszeudogének egy részéről is [6]. Mindezek egy rendkívül bonyolult, nagyon finom szabályozásra képes rendszer képét vetítik előre [10].

Sejtvonalakon végzett vizsgálatok alapján a hnkRNS-ek 30%-a kizárólag a sejtmagban, 15%-a kizárólag a citoplazmában, 50%-a pedig mind a sejtmagban, mind a citoplazmában előfordul [6].

A hnkRNS-ek egyik elsőként megismert tagja az X-kromoszóma inaktivációjáért felelős *XIST* (X inactive specific transcript) volt. A két női X-kromoszóma közül emberben az egyik véletlenszerűen inaktívódik, ami a dóziskompenzáció fontos mechanizmusa. A *XIST* fehérjékhez kötődik, amelyek közül a PRC (polycomb repressor complex) fehérjék csoportja emelendő ki. A hisztonok és a kromatin módosulása eredményezi az X-kromoszóma inaktíválódását. A PRC-fehérjék más hnkRNS-ek hatásmódjában is szerephez jutnak, és alapvető szerepük van a kromatinstruktúra és ezen keresztül a génexpresszió szabályozásában [12].

A hnkRNS-ek különleges csoportját képezik az átírt ultrakonzervatív régiók (transcribed ultraconservative regions) termékei. Jelenleg 481 olyan genomikus régió ismert, amelyek az emberi, a patkány- és egéngenomokban teljesen megegyeznek. 200-tól 780 nukleotid-hosszúságú RNS-molekulák íródnak át ezekről. E régiók mind géneken belül (intragénikus), mind gének között (intergénikus) előfordulhatnak, és exoni és introni szekvenciákat is érinthetnek [13].

A továbbiakban a daganatokban szerepet játszó hnkRNS-eken keresztül mutatjuk be a hnkRNS-ek funkcionális jelentőségét.

HnkRNS-ek daganatokban

A hnkRNS-ek a daganatképződés számos pontját befolyásolhatják, így a sejtosztódás elősegítése, a sejtnövekedést gátló hatások kiküszöbölése, korlátlan replikációs képesség, az invázió és áttétképzés serkentése, az érújdonképződés fokozása és az apoptózis gátlása révén [10].

Az egyik legkorábban megismert és daganatbiológiai jelentőséggel is bíró hnkRNS a *H19* volt. A *H19* 2,3 kb hosszúságú hnkRNS, ami kizárólag az anyai allélról íródik át. E jelenséget, amelynek során az apától és anyától származó allélok eltérően viselkednek, és csak az egyik szülőtől származó allél fejeződik ki, genomikus imprintingnek nevezzük. A *H19* szabályozási rendszerében érintett másik fontos gén az inzulinszerű növekedési faktor 2-es típusa (IGF-2), ami viszont csak az apai allélről fejeződik ki. Az IGF-2 fokozott kifejeződését több daganatban, többek között mellékvesekéreg-carcinómában is leírták. A Beckwith–Wiedemann-szindrómában (hemihypertrophia, újszülöttkori hypoglykaemia, omphalokele, mellékvesekéreg-carcinoma stb.) az IGF-2 fokozott kifejeződése alapvető jelentőségű eltérés [14]. A *H19* esetében mind fokozott (onkogén jellegű), mind csökkent (tumorszuppresszor jellegű) kifejeződést leírtak humán daganatokban. Fokozott kifejeződését húgyhólyag-, emlő- és hepatocellularis carcinómában is leírták. Kimutatták, hogy a *c-myc* protoonkogén ser-

kenti a *H19* kifejeződését [15], ugyanakkor a *p53* tumorszuppresszor gátolja azt. A nagy- és kisméretű nem kódoló RNS-világ bensőséges kapcsolatát jelzi, hogy a *H19* hnkRNS első exonja a *miR-675* mikroRNS-t kódolja, ami többek között az *Rb* (retinoblastoma) tumorszuppresszor mRNS-t gátolja [16, 17]. Számos kísérleti modellben ugyanakkor a *H19* csökkent kifejeződését fokozott daganatnövekedéssel hozták kapcsolatba [8]. Mindezek alapján a *H19* kétarcú (jin-jang) szabályozónak tűnik. Ismét a mikroRNS-eket hozva fel párhuzamként, a mikroRNS-ek esetében is előfordul szövetspecifikus hatásukkal összefüggésben, hogy ugyanaz a mikroRNS egyik szövetben onkogén, míg másokban tumorszuppresszor funkciójú [3]. E megfigyelések a nem kódoló RNS-ek általi szabályozás rendkívüli kifinomultságára utalhatnak, de ugyanakkor az esetleges terápiás beavatkozás lehetőségét nagyfokban nehezítik.

A szteroidreceptorok (ösztrogén, progeszteron, glükokortikoid és androgén) koaktivátoraként azonosított *SRA* (szteroidreceptor RNS-aktivátor) szintén a hnkRNS-ek körébe tartozik. Az *SRA* egy RNS-fehérjekomplex részeként működik, ami a szteroidreceptorok AF-1 doménjén keresztül fejt ki transzaktivációs hatását. Emlődaganatokban fokozott *SRA*-kifejeződést találtak, aminek szerepe lehet a hormonreceptorok megváltozott kifejeződésében és a daganatképződés folyamatában is [18]. Újabb adatok azonban felvetették, hogy az *SRA* nemcsak hnkRNS-ként funkcionálhat, hanem egy transzkripciót befolyásoló fehérjét is kódolhat. A nem kódoló és a fehérjét kódoló RNS képződését alternatív splicing folyamata szabályozhatja [19].

A sejtosztódás szabályozásában, a sejttöredés folyamataiban nagy jelentőségű a kromoszómák végén elhelyezkedő telomerek és az ezek hosszúságát szabályozó telomeráz enzim szerepe. Maga a telomeráz-enzim-komplex is tartalmaz egy nem kódoló RNS-t, amit *TERC*-nek (telomerase RNA component) neveznek és a reverz transzkriptáz aktivitású *TERT*-vel (telomerase reverse transcriptase) együtt alkotja a telomerázt. Újabb adatok szerint egy másik nem kódoló, döntően gátló hatású hnkRNS is szerepet játszik a telomeráz aktivitásának szabályozásában, amit *TERRA*-nak (telomeric repeat-containing RNA) neveztek el. Egyes adatok arra utalnak, hogy daganatsejtekben a *TERRA* kifejeződése csökkent mértékű, és a *TERRA* kifejeződésének fokozása a daganatnövekedés gátlásának lehetséges módszere is lehet [20].

Az áttétképződés folyamataival kapcsolatba hozott hnkRNS-ek közül a *HOTAIR* és *MALAT1* emelendő ki. A *HOTAIR* (HOX antisense intergenic RNA) kifejeződése primer és metasztatikus emlőrákban jelentősen fokozott [21]. A *HOTAIR* fokozott kifejeződése rossz prognosztikai jelként értékelhető, áttétképződéssel és csökkent túléléssel hozták kapcsolatba [8, 21]. Molekuláris hatásmódjában a már a *XIST* esetében is említett PRC2 (polycomb repressor complex 2) játszik szerepet. A *PRC2* komplex számos gén átíródását gátolja, ame-

lyek között a sejtosztódás és -differentiáció alapvető folyamatai is megtalálhatók [22]. A *HOTAIR* PRC-hez kötődése megváltoztatja a PRC represszív hatását, vélhetően számos gén átíródásának gátlását feloldja. Hatásában a kromatinstruktúra megváltozása alapvető jelentőségűnek tűnik, amiben a hisztonfehérjék módosítása szerepelhet [8].

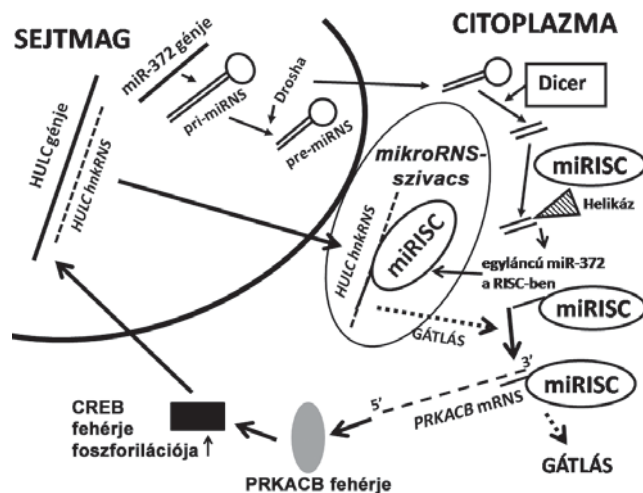
A *MALATI* (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) hnkRNS fokozott kifejeződését nem kis sejtes tüdőrákban írták le [23]. A nem kis sejtes tüdőrák mellett prostata-, emlő-, máj- és uterusarcinomában is fokozott expresszióját észlelték. A *MALATI* a daganatos sejtek invazivitásának szabályozásában fontosnak tűnik, de ennek pontos hatásmechanizmusa nem ismert. Egyes adatok arra utalnak, hogy az mRNS-érés, az alternatív splicing folyamataiban lehet fontos szerepe [24].

A *XIST*-hez és a *HOTAIR*-hez hasonlóan egy további fontos hnkRNS hatásában is a PRC-komplexek kötése tűnik meghatározónak. Ez a hnkRNS az *ANRIL* (antisense non-coding RNA in the INK4 locus), amelynek génje a sejtciklus, sejt differenciáció és apoptózis szabályozásában fontos *INK4b-ARF-INKa* locusban található. Az *INK4b-ARF-INKa* locus daganatbiológiai jelentőségét jelzi, hogy deletióját számos daganatban leírták már [25]. Az e locusban kódolt *ANRIL* a PRC1- és PRC2-komplexeken keresztül gátolja számos gén (többek között a p15 és p21 tumorsuppresszor gének) kifejeződését [26, 27].

A *MEG3* volt az első döntően tumorsuppresszor-ként azonosított hnkRNS. A *H19*-hez hasonlóan a *MEG3* is apai imprinting alatt áll, azaz csak az anyai allélről fejeződik ki [28]. Szintén analógiaként értelmezhető a *H19*-cel, hogy a *MEG3* is kódol egy mikroRNS-t, a *miR-770*-et, amelynek génje azonban az RNS 3' végén egy intronban található [29]. A *MEG3* az agyalapi mirigyben és az agyszövetben fejeződik ki legnagyobb mértékben, és hypophysadenomákban csökkent kifejeződését a *MEG3* kifejeződését szabályozó régió fokozott metilációjával hozták összefüggésbe [28]. A *MEG3* tumorsuppresszor hatásában a *p53*-útvonalak aktiválása tűnik elsődlegesnek. A *p53* nemcsak effektorként szerepel a hnkRNS-ek hatásában, hanem a *p53* maga is indukálja egyes hnkRNS-ek kifejeződését, amelyek között a tumorsuppresszor hatású *lncRNS-p21* emelendő ki [30].

Egy másik tumorsuppresszor hatású hnkRNS a *GAS5* (growth-arrest specific 5). A korábban említett *SRA*-hoz hasonlóan a *GAS5* is szerepet játszik a glükokortikoidreceptor hatásának szabályozásában, azonban a glükokortikoid rezponzív elemek kötése nyomán elsősorban a glükokortikoid hatás gátlása révén [31, 32]. A *GAS5* fokozott kifejeződése sejt szaporodás gátlását eredményezte emlő- és prostatarák-sejtvonalakban, és ebben az mTOR-útvonal is szerepet játszik [33].

Rendkívül érdekes molekuláris mechanizmusnak tűnik, hogy a hnkRNS-ek komplementer mikroRNS-



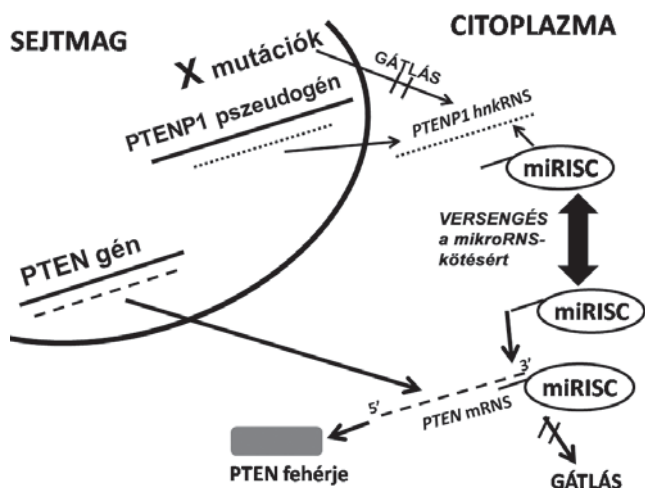
1. ábra

A hnkRNS-ek működése mikroRNS-szivacsként: a *HULC*-szabályozás molekuláris mechanizmusának sematikus ábrázolása

A *miR-372* mikroRNS génről először pri-mikroRNS (pri-miRNS), majd ebből a Drosha nukleáris enzim hatására pre-mikroRNS (pre-miRNS) képződik, ami a citoplazmába jut ki. A citoplazmában a Dicer enzimkomplex a kettős szálú, hajtűszerkezetű pre-mikroRNS-t hasítja, majd a kétszálú RNS-helikáz hatására kitekeredik, és az egyláncú, érett mikroRNS a mikroRNS indukálta csendesítő komplexbe (microRNA-induced silencing complex, miRISC) épül be. A miRISC-ben stabilizált érett, egyláncú mikroRNS, a cél-mRNS 3' nem transzlálódó végéhez kötődik. A *miR-372* cél mRNS-e a PRKACB fehérjét kódolja, aminek hatására a PRKACB fehérjévé íródása gátolódik. A PRKACB a CREB-kötő fehérje foszforilációját serkenti és ez a kromatin fellazító hatása nyomán a transzkripció aktivitás, többek között a *HULC* átíródásának fokozódását eredményezi. A *miR372* e folyamatot gátolja. A *HULC* hnkRNS azonban mikroRNS-szivacsként megköti a vele komplementer *miR372*-t és ezáltal a PRKACB-t felszabadítja a gátlás alól. A *HULC* így egy öngerjesztő szabályozási hurok központi eleme

eket köthetnek meg, és ezáltal azok hatását gátolják. E jelenséget mikroRNS-szivacs (microRNA sponge) néven írták le. A mikroRNS-szivacsot egyébként a mikroRNS-ek hatásának gátlásában mesterséges nukleinsavak révén is vizsgálják, mivel segítségével több mikroRNS egyidejű gátlása válhat lehetségessé [34]. A természetes mikroRNS-szivacs eklatáns példája a hepatocellularis carcinomában jelentősen fokozott kifejeződést mutató *HULC* (highly upregulated in liver cancer) hnkRNS [35]. A *HULC* megköti a *miR-372* mikroRNS-t, amelynek elsődleges cél-mRNS-e a CREB (cAMP rezponzív elem kötő) fehérjét foszforiláló PRKACB fehérjét kódolja. A *HULC* *miR-372*-kötő hatása következtében a PRKACB mRNS a gátlás alól felszabadul, így a CREB fehérje foszforilációja fokozódik. A CREB fehérje a kromatin fellazulását, transzkripció aktivitásának fokozódását eredményezi, és ez többek között a *HULC* fokozott kifejeződését is eredményezi [36]. E mechanizmus így egy önserkentő molekuláris folyamatot képez (1. ábra).

A *HULC* által közvetített mikroRNS-hatás gátláshoz hasonló mechanizmust írtak le a *PTEN* (phosphatase



2. ábra

A *PTEN*- és *PTENPI*-szabályozás sématis ábrázolása

A *PTENPI* pszeudogénről átíródó hncRNS ugyanazon mikroRNS-eket köti (miRISC-ben stabilizált egyláncú mikroRNS), mint a *PTEN* tumorszuppresszor kódozó mRNS. A *PTENPI* így verseng a gátlóhatású mikroRNS-ekért. Daganatokban a *PTENPI* mutációi a *PTENPI* hncRNS kifejeződésének csökkenését eredményezik, miáltal a mikroRNS-ek felszabadulnak a *PTENPI*-mediált gátlás alól, ami a *PTEN*-fehérje csökkent kifejeződéséhez vezet.

and tensin homolog) tumorszuppresszor esetében is. A *PTEN* génnek ugyanis ismert egy fehérjetermékét nem kódozó pszeudogénje, a *PTENPI*, ami egy olyan hncRNS-t kódoz, aminek a 3' mikroRNS-eket köti része nagyrészt megegyezik a *PTEN*-mRNS-szekvenciával. A *PTENPI* és a *PTEN* ezek alapján verseng a gátlóhatású mikroRNS-ek kötéséért. Normális körülmények között a *PTENPI* hncRNS a *PTEN* mRNS-t is kötni képes mikroRNS-ek megkötése révén lehetővé teszi a *PTEN* kifejeződését és tumorszuppresszor hatásának kifejtését [37]. Daganatokban azonban a *PTENPI* 3' végén előforduló szomatikus, mikroRNS-kötő helyeket inaktíváló mutációk a *PTENPI* mikroRNS-eket köti képességének elvesztéséhez vezetnek. Ennek következtében a *PTEN* kifejeződése csökken, ami a daganatnövekedés fokozódását eredményezheti [38] (2. ábra).

Az érújdonképződés folyamataiban központi fontosságú transzkripció faktor, a hypoxia indukálta faktor 1 α (*HIF1 α*) szabályozásában is szerepet játszik egy hncRNS, amit α *HIF*-nek neveznek. Az α *HIF* egy természetes antiszenz hncRNS, amely komplementer a *HIF1 α* mRNS 3' nem transzlálódó részével. Az α *HIF* fokozott kifejeződése a *HIF1 α* gátlásához és ezen keresztül az angiogenezis gátlásához vezet [39]. Az α *HIF* hncRNS kifejeződését számos szövetben leírták, és érdekes módon emlőrákban kifejeződése rossz prognosztikus faktornak minősül [40].

Az ultrakonzervatív régiókról átíródó hncRNS-ek eltérő kifejeződését is leírták különböző daganatokban [8, 41]. Ezek közül az uc.73A(P) ultrakonzervatív transzkript jelentősen fokozott kifejeződését találták

vastagbélrákban, és ennek depléciója a sejtszaporodás gátlásához vezetett. Lehetségesnek tűnik ez alapján, hogy ezen ultrakonzervatív régiókat onkogén hatású. Az ultrakonzervatív régiókban egy nukleotidot érintő polimorfizmusokat (single nucleotide polymorphism, SNP) is leírták, amelyek közül kettőt a családi halmazódást mutató emlőrákkal is kapcsolatba hozták [42]. SNP-eket más hncRNS-eket kódozó szekvenciákban is leírták, sőt valószínűsíthető, hogy mutációk is befolyásolhatják e szekvenciákat. Az *INK4b-ARF-INKa* locust és az *ANRIL*-t érintő nagyméretű deletiót írtak le örök-lődő cutan melanomában és idegrendszeri daganatokban [31].

A hncRNS-ek diagnosztikus és terápiás jelentősége

A mikroRNS-ek alkalmazhatóságát a daganatok diagnosztikájában számos kísérleti eredmény támasztja alá. Alkalmazhatóságukat nagyban bővíti stabilitásuk, miáltal nemcsak fagyasztott szövetmintákból, hanem formalinfixált paraffinos szövetblokkokból is biztonságosan kimutathatók, sőt új adatok szerint a testfolyadékokban és váladékokban is detektálhatók. Meglepő módon a hncRNS-ek, nagyobb méretük ellenére is, kimutathatók testfolyadékokban, így például a *HULC* hepatocellularis carcinomában szenvedő betegek vérmintáiban [34]. A prostatacarcinomára jellemző *PCA3* (prostate cancer gene 3) hncRNS vizeletből történő kimutatását egyes tanulmányokban a szérumban prostataspecifikus antigén (PSA) érzékenyebbnek írták le [43].

Egyes hncRNS-ek szövetszöveti kimutatásának prognosztikus jelentőséget tulajdonítanak. Hepatocellularis carcinomában például a *MALAT1* fokozott kifejeződését rossz prognózissal és májtranszplantációt követően csökkent túléléssel társították [44].

Bár a hncRNS-ek biológiáját még csak most kezdjük megismerni, és még számtalan kérdés tisztázásra vár, elképzelhetőnek tűnik, hogy alapvető daganatbiológiai jelentőségük alapján terápiás célpontként is szerepelhetnek a jövőben. Lehetségesnek tűnik egyes hncRNS-ek, például a *HOTAIR* effektor komplexekhez történő kötésének gátlása [45]. Ígéretes vizsgálatok folynak a *H19* felhasználásával is, amelynek keretében olyan plazmidot állítottak elő, amely a *H19* szabályozó régiói által irányított kifejeződésű diftériatoxint kódoz, és a *H19*-et fokozottan kifejező daganatszövetben dúsulva az ott koncentráltan megjelenő toxin a daganatsejtek elpusztítására vezethet [46].

Összefoglalásképpen állítható, hogy a hosszú, nem kódozó RNS-ek megismerése a molekuláris daganatbiológiai kutatások új fejezetét jelenti, és ezek mind a daganatok kialakulási folyamatainak jobb megértését, mind a jövőbeli diagnosztikus és terápiás lehetőségeket vetítik előre.

Irodalom

- [1] Carninci, P., Kasukawa, T., Katayama, S., et al.: The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science*, 2005, 309, 1559–1563.
- [2] Molnár, V., Bakos, B., Hegyesi, H., et al.: Nem kódoló genom és mikroRNS-ek: új fejezet a genetika történetében. *Lege Artis Medicinæ*, 2008, 18, 591–597.
- [3] Tömböl, Z., Szabó, P., Rácz, K., et al.: Relevance of microRNA-s in neoplastic diseases. [A mikroRNS-ek jelentősége daganatos betegségekben.] *Orv. Hetil.*, 2007, 148, 1135–1141. [Hungarian]
- [4] Derrien, T., Guigó, R., Johnson, R.: The long non-coding RNAs: a new (p)layer in the “dark matter”. *Front. Genet.*, 2012, doi: 10.3389/fgene.2011.00107
- [5] Varki, A., Altheide, T. K.: Comparing the human and chimpanzee genomes: Searching for needles in a haystack. [A hosszú nem kódoló RNS-ek jelentősége a daganatbiológiában.] *Genome Res.*, 2005, 15, 1746–1758.
- [6] Atkinson, S. R., Marguerat, S., Bähler, J.: Exploring long non coding RNAs through sequencing. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2012, 23, 200–205.
- [7] Nagano, T., Fraser, P.: No nonsense functions for long noncoding RNAs. *Cell*, 2011, 145, 178–181.
- [8] Gibb, E. A., Brown, C. J., Lam, W. L.: The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol. Cancer*, 2011, 10, 38.
- [9] Mitra, S. A., Mitra, A. P., Triche, T. J.: A central role for long non-coding RNA in cancer. *Front. Genet.*, 2012, doi: 10.3389/fgene.2012.00017
- [10] Gutschner, S., Diederichs, S.: The hallmarks of cancer. A long non-coding RNA point of view. *RNA Biol.*, 2012, 9, 703–719.
- [11] Knowling, S., Morris, K. V.: Non-coding RNA and antisense RNA. Nature’s trash or treasure? *Biochimie*, 2011, 93, 1922–1927.
- [12] Aguilo, F., Zhou, M. M., Walsb, M. J.: Long non coding RNA, polycomb, and the ghosts haunting LNK4b-ARF-LNK4a expression. *Cancer Res.*, 2011, 71, 5365–5371.
- [13] Bejerano, G., Pheasant, M., Makunin, I., et al.: Ultraconserved elements in the human genome. *Science*, 2004, 304, 1321–1325.
- [14] Szabó, D., Zsippai, A., Bendes, M., et al.: Pathogenesis of adrenocortical cancer. [A mellékvesekéreg-carcinoma molekuláris patogenezise.] *Orv. Hetil.*, 2010, 151, 1163–1170. [Hungarian]
- [15] Barsyte-Lovejoy, D., Lau, S. K., Boutros, P. C., et al.: The c-Myc oncogene directly induces the H19 noncoding RNA by allele-specific binding to potentiate tumorigenesis. *Cancer Res.*, 2006, 66, 5330–5337.
- [16] Cai, X., Cullen, B. R.: The imprinted H19 noncoding RNA is a primary microRNA precursor. *RNA*, 2007, 13, 313–316.
- [17] Tsang, W. P., Ng, E. K., Ng, S. S., et al.: Oncofetal H19-derived miR-675 regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 2010, 31, 350–358.
- [18] Leygue, E., Dotzlaw, H., Watson, P. H., et al.: Expression of the steroid receptor RNA activator in human breast tumors. *Cancer Res.*, 1999, 59, 4190–4193.
- [19] Hube, F., Guo, J., Choimiedass-Kothari, S., et al.: Alternative splicing of the first intron of the steroid receptor RNA activator (SRA) participates in the generation of coding and noncoding RNA isoforms in breast cancer cell lines. *DNA Cell Biol.*, 2006, 25, 418–428.
- [20] Caslini, C.: Transcriptional regulation of telomeric non-coding RNA: implications on telomere biology, replicative senescence and cancer. *RNA Biol.*, 2010, 7, 18–22.
- [21] Gupta, R. A., Shah, N., Wang, K. C., et al.: Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature*, 2010, 464, 1071–1076.
- [22] Morey, L., Helin, K.: Polycomb group protein-mediated repression of transcription. *Trends Biochem. Sci.*, 2010, 35, 323–332.
- [23] Ji, P., Diederichs, S., Wang, W., et al.: MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene*, 2003, 22, 8031–8041.
- [24] Tripathi, V., Ellis, J. D., Shen, Z., et al.: The nuclear-retained non-coding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol. Cell*, 2010, 39, 925–938.
- [25] Popov, N., Gil, J.: Epigenetic regulation of the INK4b-ARF-INK4a locus: in sickness and in health. *Epigenetics*, 2010, 5, 685–690.
- [26] Yu, W., Gius, D., Onyango, P., et al.: Epigenetic silencing of tumour suppressor gene p15 by its antisense RNA. *Nature*, 2008, 451, 202–206.
- [27] Morris, K. V., Santoso, S., Turner, A. M., et al.: Bidirectional transcription directs both transcriptional gene activation and suppression in human cells. *PLoS Genet.*, 2008, 4, e1000258.
- [28] Zhang, X., Zhou, Y., Mehta, K. R., et al.: A pituitary-derived MEG3 isoform functions as a growth suppressor in tumor cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003, 88, 5119–5126.
- [29] Hagan, J. P., O’Neill, B. L., Stewart, C. L., et al.: At least ten genes define the imprinted Dlk1-Dio3 cluster on mouse chromosome 12qF1. *PLoS One*, 2009, 4, e4352.
- [30] Huarte, M., Guttman, M., Feldser, D., et al.: A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell*, 2010, 142, 409–419.
- [31] Wapinski, O., Chang, H. Y.: Long noncoding RNAs and human disease. *Trends Cell Biol.*, 2011, 21, 354–361.
- [32] Kino, T., Hurt, D. E., Ichijo, T., et al.: Noncoding RNA gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor. *Sci. Signal*, 2010, 3, 8.
- [33] Mourtada-Maarabouni, M., Hasan, A. M., Farzaneh, F., et al.: Inhibition of human T-cell proliferation by mammalian target of rapamycin (mTOR) antagonists requires noncoding RNA growth-arrest-specific transcript 5 (GAS5). *Mol. Pharmacol.*, 2010, 78, 19–28.
- [34] McDermott, A. M., Heneghan, H. M., Miller, N., et al.: The therapeutic potential of microRNAs: disease modulators and drug targets. *Pharm. Res.*, 2011, 28, 3016–3029.
- [35] Panzitt, K., Tschernatsch, M. M., Guelly, C., et al.: Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA. *Gastroenterology*, 2007, 132, 330–342.
- [36] Wang, J., Liu, X., Wu, H., et al.: CREB upregulates long non-coding RNA, HULC expression through interaction with microRNA-372 in liver cancer. *Nucleic Acids Res.*, 2010, 38, 5366–5383.
- [37] Poliseno, L., Salmena, L., Zhang, J., et al.: A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*, 2010, 465, 1033–1038.
- [38] Alimonti, A., Carracedo, A., Clobessy, J. G., et al.: Subtle variations in Pten dose determine cancer susceptibility. *Nat. Genet.*, 2010, 42, 454–458.
- [39] Rossignol, F., Vaché, C., Clottes, E.: Natural antisense transcripts of hypoxia-inducible factor 1 alpha are detected in different normal and tumour human tissues. *Gene*, 2002, 299, 135–140.
- [40] Cayre, A., Rossignol, F., Clottes, E., et al.: α HIF but not HIF-1alpha transcript is a poor prognostic marker in human breast cancer. *Breast Cancer Res.*, 2003, 5, R223–R230.
- [41] Calin, G. A., Liu, C. G., Ferracin, M., et al.: Ultraconserved regions encoding ncRNAs are altered in human leukemias and carcinomas. *Cancer Cell*, 2007, 12, 215–229.
- [42] Yang, R., Frank, B., Hemminki, K., et al.: SNPs in ultraconserved elements and familial breast cancer risk. *Carcinogenesis*, 2008, 29, 351–355.

- [43] *Tinzi, M., Marberger, M., Horvath, S., et al.*: DD3PCA3 RNA analysis in urine – a new perspective for detecting prostate cancer. *Eur. Urol.*, 2004, 46, 182–186.
- [44] *Lai, M. C., Yang, Z., Zhou, L., et al.*: Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Med. Oncol.*, 2011, DOI: 10.1007/s12032-011-0004-z [Epub ahead of print]
- [45] *Tsai, M. C., Spitale, R. C., Chang, H. Y.*: Long intergenic non-coding RNAs: new links in cancer progression. *Cancer Res.*, 2011, 71, 3–7.
- [46] *Smaldone, M. C., Davies, B. J.*: BC-819, a plasmid comprising the H19 gene regulatory sequences and diphtheria toxin A, for the potential targeted therapy of cancers. *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 2010, 12, 607–616.

(Igaz Péter dr.,
 Budapest, Szentkirályi u. 46., 1088
 e-mail: igaz.peter@med.semmelweis-univ.hu)

Tudomány szórakoztatóan
 Az Akadémiai Kiadó
 ÚJ POLIHISZTOR sorozata

AKADÉMIAI KIADÓ

AKADÉMIAI KIADÓ Zrt.
 1117 Budapest, Prielle K. u. 19.
 Telefon: (06 1) 464 8200
 email: ak@akrt.hu
 www.akademiaikiado.hu