



非编码 RNA 在肿瘤发生中的不同作用

林梅^①, 吴静^②, 单革^{①*}

① 中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230026;

② 华中科技大学生命科学与技术学院, 武汉 430074

* 联系人, E-mail: shange@ustc.edu.cn

2011-08-09 收稿, 2011-10-08 接受

国家重点基础研究发展计划(2011CBA01103)、国家自然科学基金(31071132)和教育部自主创新基金(HUST: 2010ZD022)资助

摘要 哺乳动物中大部分基因通过转录产生大量的非编码 RNA. 过去的 10 余年间, microRNA 和 siRNA 2 种小分子非编码 RNA 以及其他各种类型非编码 RNA 的发现, 极大地促进了生物学发展. 非编码 RNA 研究领域也不断被拓展. 最近不少文献报道了 miRNA 和其他 ncRNA 的各种功能, 如 *H19* RNA、*HOTAIR*、超保守区域转录子、天然反义 RNA、转运 RNA 和线粒体的非编码 RNA 等非编码 RNA 参与多种细胞活动, 并与一些疾病及肿瘤相关. 本文将介绍一些非编码 RNA 与肿瘤相关的最新研究进展, 并着重讨论除 microRNA 以外其他 ncRNA 与肿瘤的关系.

关键词

非编码 RNA
肿瘤
microRNA

哺乳动物绝大多数的基因组通过转录产生大量非编码 RNA(noncoding RNA, ncRNA), 这些 ncRNA 没有可读框, 或有一个保守性差的短可读框且不编码蛋白质^[1,2]. 在过去的 10 余年中, 小分子 RNA, 包括 microRNA 和小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)的发现, 是生物学发展中的重大进展. 自从发现 miRNA 与癌症发病机制相关以来^[3], 大量研究表明, miRNA 在许多癌症的发生和发展中起重要的调控作用. 近年来非编码 RNA 领域不断扩展, 不少研究发现其他非编码 RNA, 包括 *H19* RNA、*HOTAIR*、超保守区域转录子、天然反义 RNA、转运 RNA 以及线粒体的非蛋白质编码 RNA 等参与各种细胞活动, 并与多种疾病包括肿瘤相关(图 1). 本文将重点介绍几种与肿瘤相关 ncRNAs 的研究进展.

1 microRNA 和肿瘤

microRNA(miRNA)是在真核生物中发现的一类小非编码 RNA, 其大小约 18~25 nt. miRNA 通过序列特异性结合到靶 mRNA 的 3'端非翻译区(3' UTR), 对基因起转录后调控作用. 根据 2011 年 4 月 miRBase 数据库发布的数据显示, 人类 miRNA 种类为 1424 种

(<http://microrna.sanger.ac.uk/>), 其中超过 60% 的人类编码基因可与 miRNA 选择性配对^[4]. 根据序列互补程度的不同, miRNA 可导致靶 mRNA 的降解或者阻遏靶 mRNA 的翻译^[5,6].

已发现在多种人类恶性肿瘤中, 一些 miRNA 作为抑癌因子常发生突变或缺失. Calin 等人^[3]首次报道 *miR-15a* 和 *miR-16-1* 聚集在染色体 13q14 位点, 而该区域在慢性 B 细胞淋巴细胞性白血病中经常缺失, 提示 *miR-15a* 和 *miR-16-1* 可能具有肿瘤抑制基因的功能. 这个发现促进所有 miRNA 基因图谱在染色体上定位, 并发现人和小鼠中一些重要的 miRNA 位于肿瘤相关的基因区域, 提示染色体异常(如染色体缺失或重复)与 miRNA 调控异常和肿瘤发生相关^[7,8]. 研究发现, let-7 家族成员的缺失导致 *RAS* 癌基因过量表达^[9]. Calin 等人^[3]发现 *miR-15a* 和 *miR-16-1* 作用于一个抑制细胞凋亡的癌基因 *Bcl-2*. 显然, miRNA 的缺失导致癌基因功能异常从而诱导了肿瘤的恶性转变.

然而, 在多种人类肿瘤中也发现 miRNA 表达量增加, 并有证据提示其中一些 miRNA 起癌基因的作用. 最早发现在肿瘤中过表达的 miRNA 是 *miR-155*

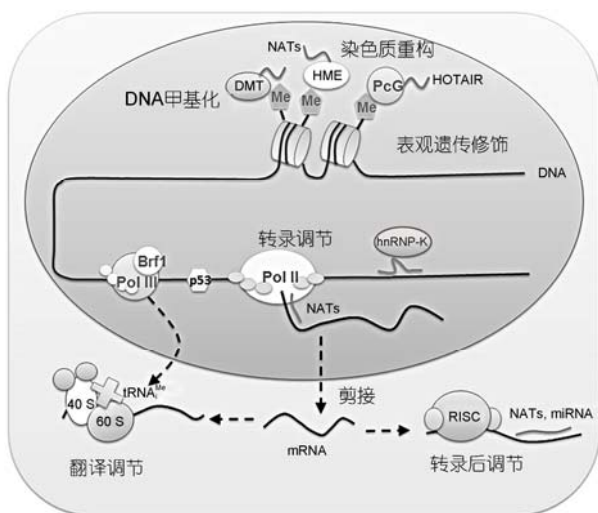


图1 ncRNA 通过不同机制参与肿瘤发生与癌症生物学

和 miR-17-92 基因簇^[10,11]。有趣的是,在上皮来源的实体肿瘤、白血病和淋巴瘤中, *miR-155* 表达量升高并起致癌基因的作用;而在内分泌肿瘤中, *miR-155* 表达下调,可能起抑癌作用^[12]。这提示 miRNA 在肿瘤中的作用存在组织特异性和肿瘤特异性。

miRNA 参与调控肿瘤的多个方面,包括转录、细胞周期调节、细胞凋亡、血管生成、肿瘤的浸润和转移^[13]。目前已发现大量 miRNA-靶基因对参与肿瘤的发生^[14]。

miRNA 表达谱可反映肿瘤的来源、分级和其他病理学参数,故可作为肿瘤诊断和判断预后的工具。在 miRNA 缺失或过量表达的肿瘤中可予以相应的 miRNA 或抗-miRNA^[15]作为治疗。依据 miRNA 在细胞生长和生存中的不同作用,这种治疗可分为诱导细胞凋亡和/或停止细胞周期。已经有许多研究报道探讨了 miRNA 和肿瘤的关系,在此我们仅作简单介绍,读者可以通过阅读文献获得更多信息^[16,17]。

2 其他非编码 RNA 在肿瘤中的作用

近期一些研究有力证实了 miRNA 在大量肿瘤发生中的重要作用。随着对 ncRNA 功能的了解增加,人们发现其他 ncRNA 在肿瘤发生中也起重要作用。

2.1 基因间长片段非编码 RNA

普遍认为哺乳动物细胞中存在成千上万的基因间长片段非编码 RNA (large intergenic noncoding

RNA, lincRNA)^[18]。到目前为止,只有大约十几种 lincRNA 的功能研究得较清楚,其片段大小在 2300~17200 nt 之间^[19,20]。这些 lincRNA 通过各种分子机制起不同的生物学作用,包括遗传印迹(如 *H19* RNA)、反式基因调节(如 *HOTAIR*)、P53 应答下调全基因抑制活动(如 *lincRNA-p21*)、作用于 X 染色体失活(如 *Xist*)^[20]和调节细胞核输入(如 *Nron*)^[21]。近期研究显示, *H19* 和 *HOTAIR* 等一些 lincRNA 参与肿瘤的发展和转移,下面进行逐一介绍。

(i) *H19* RNA. *H19* 是位于 11 号染色体 p15.5 上的母系印迹基因,转录成约 2500 nt、含多聚腺苷酸的长片段非编码剪接体,即 *H19* RNA. *H19* RNA 在出生后大多数组织中停止表达,而在组织再生及肿瘤形成过程中被重新激活^[22,23]。该印迹基因位点与儿童和成人肿瘤中的功能紊乱及癌症易感性相关,这些结果提示 *H19* 可能为肿瘤抑制子。Hao 等人^[24]研究发现,在某些肿瘤细胞系中经转染诱导 *H19* RNA 的表达可抑制细胞增殖与肿瘤发生。另有研究发现,在部分 Wilms 的肿瘤和胚胎横纹肌肉瘤中 *H19* 表达减少甚至缺失^[25,26],所有这些数据表明 *H19* 是抑癌基因。

然而,其他许多关于 *H19* 表达与致癌作用关系的研究结果支持 *H19* 作为一种癌基因的观点^[23,27]。最近的研究表明, *H19* 表达量改变与肿瘤发生的不同阶段相关,如细胞逆分化^[28]、血管发生^[29]与肿瘤转移^[30]。

尽管许多相关研究提出, *H19* 在癌症中表达异常,但是对于 *H19* 作为肿瘤抑制基因或癌基因的作用机制了解甚少。Berteaux 和 Lottin^[31]研究发现, *H19* 的过表达在乳腺癌细胞增殖中起重要作用,这种作用是通过转录因子 E2F1 直接或间接结合在 *H19* 启动子上,从而促进细胞进入 S 期并加速细胞周期进程。最近研究发现,在 *H19* 基因的 1 号外显子上存在 miRNA(miR-675),提示 *H19* RNA 可能通过 2 种不同的途径实现不同功能:一种通过经剪接的全长转录片段,另一种通过 miR-675 的前体^[32]。这种二元性可以解释 *H19* 在控制肿瘤生长中相矛盾的功能(可抑制或促进肿瘤生长)。

IGF-2 是一种致癌基因,它与 *H19* 基因在相同的印迹基因位点,并与之相反地仅在父系来源的基因中表达(父系印迹)^[33]。在胚胎发育期间, *IGF-2* 与 *H19* 的表达在组织类型和发育阶段中显示相同的表达模式^[34]。在胚胎性肿瘤的发病过程中,研究发现 *IGF2*

基因缺失与 *H19* 基因失活^[35], 这种基因表达模式提示这 2 种基因存在共调控的关系. 此外, *H19* RNA 参与抑制癌基因 *IGF-2* 的转录^[36]或翻译^[37].

在肿瘤中, *H19* 表达受多个因子的调控. Boutros 等人^[23]发现 c-Myc 直接结合 *H19* 启动子, 通过募集组蛋白乙酰转移酶(HAT), 显著上调母源 *H19* 等位基因的转录; 同时被 Myc 上调的 *H19* 表达对乳腺癌和肺癌细胞的致瘤表型有显著影响^[38]. 对乳腺癌的研究发现, *H19* 为肝细胞生长因子(HGF)的一个靶基因. 这些结果提示, 在基因治疗中可利用 *H19* 启动子促进致癌细胞表达细胞毒性基因^[39].

(ii) *HOTAIR*. 哺乳动物的同源异性盒(homeobox, *Hox*)基因为发育早期调控生物形体的基因, 可分成 4 个基因簇并分别位于不同的染色体上(HOX A~D). Rinn 和 Kertesz^[40]发现一个长 2158 nt 的 lincRNA, 该 lincRNA 反式调控位于不同染色体上的 HOX 基因簇, 而不调控编码该 lincRNA 自身的 HOX 基因簇, 将这一 lincRNA 命名为 *HOTAIR*(HOX anti-sense intergenic RNA). *HOTAIR* 由 HOX C 位点转录, 能驱使核心蛋白抑制复合体 2(polycomb repressive complex 2, PRC2)及其他核染色质调控因子至 HOX D 位点和其他许多潜在的基因位点^[40-42]. Rinn 和 Kertesz^[40]分析这些基因位点的转录表达模式, 发现作用于具有不同表观遗传水平修饰的染色体区域的 ncRNA, 提示该 ncRNA 作用机制可能为表观遗传学水平, 这一假设仍需要研究证实. 这项研究首次发现了经某一染色体转录的 RNA 可以影响另一个染色体基因的转录. 该发现也揭示了一个新的机制: ncRNAs 可远距离调控染色体区的沉默, 它可能对于疾病和发育具有重要的意义.

最近, Gupta 和 Shah^[41]报道 *HOTAIR* 在乳腺癌中表达下调, 并提出 *HOTAIR* 调控癌症转移进程. 他们发现 *HOTAIR* 在全基因范围招募 PRC2 复合体至特异性靶基因, 诱导 H3 组蛋白第 27 位赖氨酸的甲基化异常, 导致肿瘤转移抑制基因(如 *JAM2*, *PCDH10* 和 *PCDHB5*)在表观遗传水平上的沉默, 同时诱导肿瘤转移正向调控基因(如 *ABL2*, *SNAIL* 和层黏连蛋白)的表达. PRC2 缺乏会使 *HOTAIR* 诱导的表达结果逆转.

HOTAIR 和 PRC2 的相互依存关系提示其潜在的治疗价值. 对 PRC2 抑制剂敏感的肿瘤能通过 *HOTAIR* 的升高水平鉴别^[43]. 相反, 抑制内源性 *HOTAIR* 或 *HOTAIR* 和 PRC2 的相互作用可为过表达

核心蛋白的肿瘤提供潜在的治疗靶点.

(iii) *lincRNA-p21*. 在对 lincRNA 潜在的生物学作用的研究过程中, 研究人员发现了几个受 P53 调节的 lincRNA. Huarte 等人^[44]的研究发现, 许多 lincRNA 是 P53 依赖的转录通路中的关键组成部分. *lincRNA-p21* 作为这些 lincRNA 之一, 是 DNA 损伤时受 P53 直接转录调控的靶基因, 并参与 DNA 损伤下 P53 诱导的凋亡反应. *lincRNA-p21* 通过与异质核糖核蛋白 K(hnRNP-K)相互作用调控 hnRNP-K 定位.

目前关于 *lincRNA-p21* 如何抑制特定定位点的机制存在多种假设, 包括: (1) *lincRNA-p21* 可能借碱基互补配对诱导某蛋白复合体至特定定位点; (2) *lincRNA-p21* 可能通过形成 DNA-DNA-RNA 三聚螺旋结构起作用; (3) *lincRNA-p21* 可能通过改变 DNA 结合蛋白的结合特异性, 影响其结合目标, 其具体的作用机制仍需要进一步明确.

众所周知 P53 是一个抑癌基因, 因此 *lincRNA-p21* 和其他几个 lincRNA 在重要的癌症通路中起作用. 由此可推测其他 lincRNA 可能在其他许多肿瘤抑制或致癌通路中扮演重要的角色. *lincRNA* 基因是肿瘤抑制基因还是癌基因仍需要研究去揭示.

2.2 超保守区域转录子

同源基因或与其相邻的保守序列常常作为重要的顺式调节区域. 最近研究发现, 在人、小鼠和大鼠基因中极度保守的长段非编码基因区域, 命名为超保守区域(ultra-conserved regions, UCRs). UCR 为长约 200~779 bp 的序列, 最初于 2004 年由 Bejerano 发现^[45,46]. UCR 常位于肿瘤相关的基因区域或脆性位点. 大部分 UCR 编码一群特殊的 ncRNA, 称为超保守区域转录子(transcribed ultraconserved regions, T-UCRs), 在人肿瘤中其表达发生变化^[47].

Calin 等人^[47]发现在慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、结直肠癌和肝细胞癌中一种新 UCR 的 DNA 和 RNA 水平均发生显著变化. 在结肠癌中, *uc.73A* 是表达上调最高的 T-UCR 之一, 它减少细胞凋亡并促进细胞增殖, 表明有癌基因的功能.

Scaruffi 等人^[48]提出 miRNA 和 T-UCR 网络的失调可能对神经母细胞瘤的发生起重要作用. 此外, 研究结果显示, CLL 中肿瘤相关 T-UCR 受一些 miRNA 的调节^[47], 提出 T-UCR 可能与 miRNA 一同影响肿瘤与诊断、治疗及预后相关的特性. T-UCR 在

肿瘤细胞中的具体机制仍需要进一步明确。

2.3 天然反义 RNA

天然反义转录子(natural antisense transcripts, NAT),也叫反义 RNA,是含内源性转录子反义序列的一类 RNA。正义和反义 RNA 均可能为编码或非编码转录子,而在哺乳动物基因组中最多的反义转录子为编码转录子的反义非编码 RNA^[49]。迄今为止,在不同器官中已发现具抑制功能的大量自然反义 RNA。它们可由相反 DNA 链的同一基因位点顺式转录(cis-NATS),或由不同位点反式转录(trans-NATS)。近年的研究大多集中在 cis-NATS 上。

研究发现一些正义-反义转录子的相互作用与肿瘤相关。例如,人滤泡性淋巴瘤细胞系 *Bcl-2* 的反义 RNA *IgH* 诱导 *Bcl-2* 基因表达下调^[50];效应细胞蛋白酶受体-1(effector cell protease receptor-1, EPR-1)的 NAT 在人结肠癌细胞系中作为细胞凋亡抑制因子^[51]。尽管最近研究已发现了很多 NAT,但关于反义转录子如何在人细胞中调控基因表达仍不明确。其功能多样性提示,反义转录子不是一个单一类别的调控因子,而是一些具有共同特征的多类别的调控 RNA。一些真核系统中的开拓性研究提出了关于反义转录子对正义 mRNA 基因表达调控的可能机制^[52],这些机制主要分为 4 类:转录相关的机制、RNA-DNA 相互作用(如遗传印迹、DNA 甲基化改变和染色体修饰)、细胞核 RNA 双链和细胞浆 RNA 双链的形成(如内源性 siRNA 形成、阻断 miRNA 结合位点)。关于这些机制在文献[53]中有详细介绍。

正义-反义转录子对含大量重要基因,包括与各种人疾病以及肿瘤相关的基因。众所周知,正义链启动子区的 DNA 和染色体修饰常引起转录抑制。既往研究发现一些反义转录子通过改变 DNA 和染色体修饰参与癌症发生。比如 *p15*,作为熟知的肿瘤抑制基因,在淋巴瘤、黑色素瘤、胶质瘤和肺癌等多种肿瘤中缺失或表观遗传水平沉默。最近, Yu 等人^[54]发现一个 *p15* 反义 RNA(*p15AS* RNA),可诱导 *p15* 基因的表观遗传水平沉默。此项研究表明,反义 RNA 可能在转录水平上沉默正义链基因,通过影响 DNA 甲基化和组蛋白修饰导致 *p15* 基因的沉默。随后该结果由 Morris^[55]证实,他发现 *p21* 反义 RNA 导致 *p21* 正义链启动子区的 H3 组蛋白第 27 位赖氨酸的甲基化(H3K27me3)从而抑制 *p21* 基因的表达^[55]。此外, *p53*

作为重要的抑癌基因,其突变导致肿瘤发生。最近研究报道 *p53* 的一个反义转录子 *Wrap53* 通过作用于 *p53* mRNA 的 5' UTR 调控 *p53* mRNA 和 *p53* 蛋白的诱导。不同于 *p15* 和 *p21*, *Wrap53* 和 *p53* 在细胞中共同表达^[56]。

一些研究发现 NAT 与遗传印迹相关。在 6 号染色体中,一个内含母系印迹的编码基因(*Igf2r*, *Slc22a2* 和 *Slc22a3*)的区域受父系印迹表达的非编码反义转录子 *Igf2r* RNA(*Air*)的调控^[57]。*Air* 是 108 kb、未剪接的含大量重复序列的转录子,位置与 3 个基因中的 1 个基因相对应^[58]。*Air* 表达可同时沉默在同一遗传印迹位点的 3 个编码基因^[59]。尤其是研究发现反义转录子与肿瘤位点相关,这为研究不同反义转录子的功能与人肿瘤相关的分子机制提供新的视野。不仅如此, NAT 调节正义转录子表达量的功能为肿瘤治疗提供了大量的新靶向。

2.4 转运 RNA

在转化细胞(transformed cell)及卵巢癌、宫颈癌和乳腺癌等肿瘤细胞中常常可观察到 RNA 聚合酶 III(pol III)转录因子与 pol III 产物表达增加(如 tRNA 和 5S rRNA)^[60-62]。然而由于肿瘤的 pol III 的亚基或相关转录因子的突变尚未重复出现,对于 pol III 是否是肿瘤发生的原因尚无定论。

转运 RNA(transfer RNA, tRNA)是 pol III 的非编码转录产物中的一类。既往研究发现 tRNA 转甲基酶 *Misu* 在乳腺癌和大肠癌中表达增加,而 *Misu* 的 RNAi(RNA interference)抑制肿瘤的生长,提示 tRNA 代谢可能对致癌性转变起着较大的影响^[63]。

White 等人^[64]最近提出 tRNA 产物可能引起致癌性转变,该研究发现 pol III 的产物之一 tRNA_i^{Met},即 tRNA^{Met} 的起始子(initiator)的水平升高引起的表型效果可模拟 pol III 转录因子 Brf1 诱导产生的影响。此外,研究发现 tRNA_i^{Met} 表达适当增加可显著激活翻译,说明在转化细胞中常观察到的 tRNA 表达活性可能对肿瘤的发生产生功能性影响。White 等人^[64]发现他们制备的稳定转染的小鼠胚胎成纤维细胞的永生细胞系中(内含编码 tRNA^{Met} 的 cDNA),cyclin D1 和 c-Myc 蛋白表达水平升高而 mRNA 水平不变。Mei 等人^[65]发现将 tRNA 注射至细胞内可显著抑制细胞色素 c 诱导的凋亡。由此可推测, tRNA 水平可能与肿瘤发生过程中重要基因的翻译相关,并在肿瘤发生和

发展中起关键作用。

此外,对于 tRNA 在肿瘤中作用的确切机制及治疗价值尚待进一步研究。

2.5 线粒体非编码 RNA(mitochondrial non-protein-coding RNA)

哺乳动物线粒体基因组由约 16500 个核苷酸构成的双链环状 DNA 组成^[66],转录 12S 和 16S 核糖体 RNA、22 种转运 RNA(tRNA)和 13 种多肽^[67]。除了这些编码区域,线粒体 DNA(mtDNA)包含约 1-kb 大小的非编码区称 D 环(D-loop)区,该区有复制起始点和转录启动子^[68]。

大量研究提出了线粒体功能异常与肿瘤关系的多种模型。但是,其中只有很少一部分研究是关于线粒体非编码 RNA 在肿瘤中的作用。目前为止,有关线粒体非编码 RNA 在肿瘤中的作用仅停留在现象的描述,其作用机制尚缺乏大量证据。

研究发现 mtDNA 突变与多种恶性肿瘤相关。在 2 种 rRNA、所有 22 种 tRNA 和所有 13 种 mtDNA 编码的呼吸链复合物的亚基以及线粒体 D 环区中均发现这些突变^[69]。有趣的是,约一半的疾病相关突变(237/480)是位于非蛋白质编码 RNA 基因中(<http://www.mitomap.org/MITOMAP>),这些序列仅占线粒体基因组的 10%,该结果提示线粒体非编码 RNA 在疾病包括肿瘤中潜在的作用^[70]。

Mei 等人^[65]报道线粒体 tRNA 与细胞浆 tRNA 一同结合到细胞色素 c 从而减弱细胞色素 c 与一种含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶激活物 Apaf-1 (apoptosis activation factor 1)间的相互作用,阻止凋亡体的形成。该结果提出了线粒体 tRNA 在决定凋亡信号的细胞应答中可能起的作用。

Villegas 等人^[71,72]的另一个研究则首次在小鼠细胞中发现一线粒体 RNA,其中包含由 121 个核苷酸组成的逆向重复序列(inverted repeat),与线粒体 16S RNA 的 5'端共价结合。随后他们在人细胞中发现长 2374 nt 的结构类似的转录子,该转录子包含根茎(stem-loop)结构,由 820 bp 的双链区域及 40 nt 的环构成,而这种结构存在于增殖细胞中而不在休眠细胞内,提示这种非编码线粒体 RNA 在细胞增殖中可能起一定作用^[73]。他们近期的研究发现除了这个转录子,人正常增殖细胞表达两种非编码 RNA,即正义染色体非编码 RNA(SncmtRNA)和反义染色体非编码 RNA(ASncmtRNA)。在 15 个不同的肿瘤细胞系及 17 种不同肿瘤的 273 个活检标本中发现 SncmtRNA 有表达而 ASncmtRNA 的表达下降^[74]。SncmtRNA 与细胞的复制水平相关性提示 SncmtRNA 可能参与细胞周期的调节。但是,该分子如何参与对细胞周期的调节仍不清楚,对于 ASncmtRNAs 的了解则更少。ASncmtRNAs 在肿瘤细胞中的表达总是降低提示其作为线粒体编码的肿瘤抑制因子的潜在可能性^[74]。

2.6 其他 ncRNA

此外,还有一些 ncRNA 在肿瘤中表达异常,如 Alu RNA^[75],Y RNA^[76]和核仁小 RNA^[77]等,关于其作用和可能的机制可阅读相关参考文献。

3 结论

深入研究 ncRNA 对肿瘤的早期诊断、更精确的分类以及更有效的治疗都至关重要。其中利用特定 ncRNA 激活抑癌基因或抑制癌基因可作为肿瘤治疗的模型。

参考文献

- 1 Carninci P, Kasukawa T, Hayashizaki Y, et al. The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science*, 2005, 309: 1559–1563
- 2 Kapranov P, Willingham A T, Gingeras T R. Genome-wide transcription and the implications for genomic organization. *Nat Rev Genet*, 2007, 8: 413–423
- 3 Calin G A, Dumitru C D, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes *miR15* and *miR16* at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 15524–15529
- 4 Friedman R C, Farh K K, Burge C B, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*, 2009, 19: 92–105
- 5 Kawasaki H, Taira K. *MicroRNA-196* inhibits *HOXB8* expression in myeloid differentiation of HL60 cells. *Nucleic Acids Symp Ser*, 2004, 48: 211–212
- 6 Eulalio A, Huntzinger E, Nishihara T. Deadenylation is a widespread effect of miRNA regulation. *RNA*, 2009, 15: 21–32

- 7 Calin G A, Sevignani C. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 2999–3004
- 8 Sevignani C, Calin G A. MicroRNA genes are frequently located near mouse cancer susceptibility loci. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 8017–8022
- 9 Johnson S M, Grosshans H. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell*, 2005, 120: 635–647
- 10 Eis P S, Tam W. Accumulation of *miR-155* and *BIC* RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 3627–3632
- 11 Ota A, Tagawa H, Karnan S, et al. Identification and characterization of a novel gene, *C13orf25*, as a target for 13q31-q32 amplification in malignant lymphoma. *Cancer Res*, 2004, 64: 3087–3095
- 12 Calin G A, Croce C M. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6: 857–866
- 13 Lee Y S, Dutta A. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, 2009, 4: 199–227
- 14 Ryan B M, Robles A I, Harris C C. Genetic variation in microRNA networks: The implications for cancer research. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10: 389–402
- 15 Krützfeldt J, Rajewsky N. Silencing of microRNAs *in vivo* with ‘antagomirs’. *Nature*, 2005, 438: 685–689
- 16 Ryan B M, Robles A I, Harris C C. Genetic variation in microRNA networks: The implications for cancer research. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10: 389–402
- 17 Kwak P B, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci*, 2010, 101: 2309–2315
- 18 Bertone P, Stolc V, Royce T E. Global identification of human transcribed sequences with genome tiling arrays. *Science*, 2004, 24: 2242–2246
- 19 Brannan C I, Dees E C. The product of the *H19* gene may function as an RNA. *Mol Cell Biol*, 1990, 10: 28–36
- 20 Brown C J, Ballabio A. A gene from the region of the human X inactivation centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome. *Nature*, 1991, 349: 38–44
- 21 Willingham A T, Orth A P. A strategy for probing the function of noncoding RNAs finds a repressor of NFAT. *Science*, 2005, 309: 1570–1573
- 22 Brunkow M E, Tilghman S M. Ectopic expression of the *H19* gene in mice causes prenatal lethality. *Genes Dev*, 1991, 5: 1092–1101
- 23 Barsyte-Lovejoy D, Lau S K, Boutros P C. The *c-Myc* oncogene directly induces the *H19* noncoding RNA by allele-specific binding to potentiate tumorigenesis. *Cancer Res*, 2006, 66: 5330–5337
- 24 Hao Y, Crenshaw T. Tumour-suppressor activity of *H19* RNA. *Nature*, 1993, 365: 764–767
- 25 Steenman J C, Rainier S. Loss of imprinting of *IGF2* is linked to reduced expression and abnormal methylation of *H19* in Wilms’ tumour. *Nat Genet*, 1994, 7: 433–439
- 26 Moulton T, Crenshaw T. Epigenetic lesions at the *H19* locus in Wilms’ patients. *Nat Genet*, 1994, 7: 440–447
- 27 Matouk I J, DeGroot N. The *H19* noncoding RNA is essential for human tumor growth. *PLoS ONE*, 2007, 2: e845
- 28 Scott R E, Gao S. De-differentiation-derived mesenchymal stem cells demonstrate selective repression in *H19* bioregulatory RNA gene expression. *Differentiation*, 2005, 73: 294–302
- 29 Ayesh S, Matouk I. Possible physiological role of *H19* RNA. *Mol Carcinog*, 2002, 35: 63–74
- 30 Yang J, Mani S A. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell*, 2004, 117: 927–939
- 31 Berteaux N, Lottin S. *H19* mRNA-like noncoding RNA promotes breast cancer cell proliferation through positive control by E2F1. *J Biol Chem*, 2005, 280: 29625–29636
- 32 Cai X Z, Cullen B R. The imprinted *H19* noncoding RNA is a primary microRNA precursor. *RNA*, 2007, 13: 313–316
- 33 Leighton P A, Saam J R. An enhancer deletion affects both *H19* and *Igf2* expression. *Genes Dev*, 1995, 9: 2079–2089
- 34 Ekstrom T J, Cui H. Promoter-specific *IGF2* imprinting status and its plasticity during human liver development. *Development*, 1995, 121: 309–316
- 35 DeBaun M R, Niemitz E L. Epigenetic alterations of *H19* and *LIT1* distinguish patients with Beckwith-Wiedemann syndrome with cancer and birth defects. *Am J Hum Genet*, 2002, 70: 604–611
- 36 Wilkin F, Paquette J. *H19* sense and antisense transgenes modify insulin-like growth factor-II mRNA levels. *Eur J Biochem*, 2000, 267: 4020–4027
- 37 Li Y M, Franklin G. The *H19* transcript is associated with polysomes and may regulate IGF2 expression *intrans*. *J Biol Chem*, 1998, 273: 28247–28252
- 38 Toillon R A, Descamps S, Adriaenssens E. Hepatocyte growth factor enhances *CXCR4* expression favoring breast cancer cell invasiveness. *Exp Cell Res*, 2005, 310: 176–185
- 39 Banet G, Bibi O. Characterization of human and mouse *H19* regulatory sequences. *Mol Biol Rep*, 2000, 27: 157–165
- 40 Rinn J L, Kertesz M. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human *HOX* loci by noncoding RNAs. *Cell*, 2007, 129: 1311–1323

- 41 Gupta R A, Shah N. Long noncoding RNA *HOTAIR* reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature*, 2010, 464: 1071–1076
- 42 Tsai M C, Manor O, Wan Y, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science*, 2010, 6: 689–693
- 43 Tan J, Yang X, Zhuang L, et al. Pharmacologic disruption of polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells. *Genes Dev*, 2007, 21: 1050–1063
- 44 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
- 45 Bejerano G. Ultraconserved elements in the human genome. *Science*, 2004, 304: 1321–1325
- 46 Bejerano G. Into the heart of darkness: Large-scale clustering of human noncoding DNA. *Bioinformatics*, 2004, 20: i40–i48
- 47 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
- 48 Scaruffi P, Stigliani S, Moretti S, et al. Transcribed-ultra conserved region expression is associated with outcome in high-risk neuroblastoma. *BMC Cancer*, 2009, 9: 441
- 49 Katayama S, Tomaru Y. Antisense transcription in the mammalian transcriptome. *Science*, 2005, 309: 1564–1566
- 50 Capaccioli S, Quattrone A, Schiavone N, et al. A *bcl-2/IgH* antisense transcript deregulates *bcl-2* gene expression in human follicular lymphoma t(14;18) cell lines. *Oncogene*, 1996, 13: 105–115
- 51 Yamamoto T, Manome Y, Nakamura M, et al. Downregulation of survivin expression by induction of the effector cell protease receptor-1 reduces tumor growth potential and results in an increased sensitivity to anticancer agents in human colon cancer. *Eur J Cancer*, 2002, 38: 2316–2324
- 52 Cui I, Cui H. Antisense RNAs and epigenetic regulation. *Epigenomics*, 2010, 2: 139–150
- 53 Faghihi M A. Regulatory roles of natural antisense transcripts. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 637–643
- 54 Yu W, Gius D, Onyango P, et al. Epigenetic silencing of tumour suppressor gene *p15* by its antisense RNA. *Nature*, 2008, 451: 202–206
- 55 Morris K V. Bidirectional transcription directs both transcriptional gene activation and suppression in human cells. *PLoS Genet*, 2008, 4: e1000258
- 56 Mahmoudi S. Wrap53, a natural p53 antisense transcript required for p53 induction upon DNA damage. *Mol Cell*, 2009; 33: 462–471
- 57 Sleutels F, Zwart R, Barlow D P. The noncoding *Air* RNA is required for silencing autosomal imprinted genes. *Nature*, 2002, 415: 810–813
- 58 Zwart R, Sleutels F, Wutz A, et al. Bidirectional action of the *Igf2r* imprint control element on upstream and downstream imprinted genes. *Genes Dev*, 2001, 15: 2361–2366
- 59 Lyle R, Watanabe D, te Vrugte D, et al. The imprinted antisense RNA at the *Igf2r* locus overlaps but does not imprint *Mas1*. *Nat Genet*, 2000, 25: 19–21
- 60 Winter A G, Sourvinos G, Allison S J, et al. RNA polymerase III transcription TFIIC2 is overexpressed in ovarian tumours. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 12619–12624
- 61 Daly N L, Arvanitis D A, Fairley J A, et al. Deregulation of RNA polymerase III transcription in cervical epithelium in response to high-risk human papillomavirus. *Oncogene*, 2005, 24: 880–888
- 62 Pavon-Eternod M, Gomes S, Geslain R, et al. tRNA over-expression in breast cancer and functional consequences. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 7268–7280
- 63 Frye M, Watt F M. The RNA methyltransferase Misu (NSun2) mediates myc-induced proliferation and is upregulated in tumors. *Curr Biol*, 2006, 16: 971–981
- 64 Marshall L, Kenneth N S, White R J. Elevated tRNA_i^{Met} synthesis can drive cell proliferation and oncogenic transformation. *Cell*, 2008, 133: 78–89
- 65 Mei Y, Yong J, Liu H, et al. tRNA binds to cytochrome *c* and inhibits caspase activation. *Mol Cell*, 2010, 37: 668–678
- 66 Anderson S, Bankier A T, Barrell B G, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 1981, 290: 457–465
- 67 Fernández-Silva P, Enriquez J A, Montoya J. Replication and transcription of mammalian mitochondrial DNA. *Exp Physiol*, 2003, 88: 41–56
- 68 Clayton D A. Replication and transcription of vertebrate mitochondrial DNA. *Annu Rev Cell Biol*, 1991, 7: 453–478
- 69 Lu J, Sharma L K, Bai Y. Implications of mitochondrial DNA mutations and mitochondrial dysfunction in tumorigenesis. *Cell Res*, 2009, 19: 802–815
- 70 Lisa M. Impact of disease-related mitochondrial mutations on tRNA structure and function. *Trends Biochem Sci*, 2003, 28: 605–611
- 71 Villegas J, Zárraga A M, Muller I, et al. A novel chimeric mitochondrial RNA localized in the nucleus of mouse sperm. *DNA Cell Biol*, 2000, 19: 579–588

- 72 Villegas J, Müller I, Arredondo J, et al. A putative RNA editing from U to C in a mouse mitochondrial transcript. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30: 1895–1901
- 73 Villegas J, Burzio V, Villota C, et al. Expression of a novel noncoding mitochondrial RNA in human proliferating cells. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35: 7336–7347
- 74 Burzio V A, Villota C, Villegas J, et al. Expression of a family of noncoding mitochondrial RNAs distinguishes normal from cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 9430–9434
- 75 Castelnuovo M, Massone S, Tasso R, et al. An Alu-like RNA promotes cell differentiation and reduces malignancy of human neuroblastoma cells. *FASEB J*, 2010, 24: 4033–4046
- 76 Christov C P, Trivier E, Krude T. Noncoding human Y RNAs are overexpressed in tumours and required for cell proliferation. *Br J Cancer*, 2008, 98: 981–988
- 77 Gee H E, Buffa F M, Camps C, et al. The small-nucleolar RNAs commonly used for microRNA normalisation correlate with tumour pathology and prognosis. *Br J Cancer*, 2011, 104: 1168–1177