论文

中国知名大学及研究院所专栏 复旦大学生命科学学院专辑

长链非编码 RNA *LINC01126* 异常高表达促进前列腺癌发生发展

浦洪雷, 万学超, 张溥, 王丹, 吴海, 李瑶*

复旦大学生命科学学院, 上海市工业菌株工程技术研究中心, 上海 200438

* 联系人, E-mail: yaoli@fudan.edu.cn

收稿日期: 2016-01-09; 接受日期: 2016-02-02

国家自然科学基金(批准号: 31571330)和上海科学技术委员会基地项目(批准号: 13DZ2252000)资助

摘要 长链非编码 RNA(lncRNA)在疾病的发生发展过程中发挥着重要的作用. LncRNA 的异常表达与许多肿瘤的发生发展密切相关. 本研究通过分析肿瘤基因图集(TCGA)数据库首次鉴定出了在前列腺癌中高表达的长链非编码 RNA *LINC01126*, 并在前列腺癌样本和前列腺癌细胞系中得到了验证. 通过进一步分析发现, *LINC01126* 的表达量在肿瘤中显著上调(419 例前列腺癌组织样本和 52 例癌旁组织样本, $P < 0.001$), *LINC01126* 表达与临床病理分级的相关性分析中, 相比于癌旁组织, Gleason 8 样本和 Gleason 9 样本中的 *LINC01126* 表达水平显著增加(52 例癌旁组织样本; Gleason 8, $n=44$, $P < 0.001$; Gleason 9, $n=71$, $P < 0.001$). 进一步的分析结果表明, *LINC01126* 能够较好地指示前列腺癌的 Gleason 分级. 相比于 Gleason 6 样本, Gleason 8 样本和 Gleason 9 样本中的 *LINC01126* 表达水平上调(Gleason 6, $n=30$; Gleason 8, $n=44$, $P < 0.01$; Gleason 9, $n=71$, $P < 0.05$). 同样, 相比于 Gleason 7 样本, Gleason 8 样本和 Gleason 9 样本中的 *LINC01126* 表达水平也显著增加(Gleason 7, $n=193$; Gleason 8, $n=44$, $P < 0.001$; Gleason 9, $n=71$, $P < 0.001$). *LINC01126* 的表达水平与前列腺癌病理分期的相关性结果提示, *LINC01126* 在发生转移的前列腺癌中的表达量更高, 差异显著(T2a, T2b, T2c 样本共 144 例, T3a, T3b, T4 样本共 194 例, $P < 0.01$). 另外, 还分析了与 *LINC01126* 共表达或相反表达的 mRNA, 作为其可能的调控基因, 及其这些基因的生物学进程和相关的信号通路, 表明 *LINC01126* 与前列腺癌发生发展具有潜在的生物学关联, 有望成为前列腺癌的生物标志物.

关键词 长链非编码 RNA, *LINC01126*, 前列腺癌, 生物标志物

前列腺癌是常见的男性生殖系统恶性肿瘤之一, 在男性肿瘤相关的死亡原因中排名第二, 2015 年在美国男性中有 27540 人死于前列腺癌^[1]. 前列腺癌是一种发病较慢的疾病, 多数病人并非死于前列腺癌疾

病. 通过组织活检的方式来鉴定前列腺癌给病人造成巨大的痛苦. 血清前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)检测已经成为前列腺癌筛查中运用最普遍的标志物. PSA 在前列腺癌中高表达, 但

引用格式: 浦洪雷, 万学超, 张溥, 等. 长链非编码 RNA *LINC01126* 异常高表达促进前列腺癌发生发展. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 432–440
Pu H L, Wan X C, Zhang P, et al. Ectopic expression of long non-coding RNA *LINC01126* affects prostate development. Sci Sin Vitae, 2016, 46: 432–440, doi: 10.1360/N052016-00100

它在良性的前列腺组织中表达量也较高, 因此缺乏足够的特异性^[2], 导致大量不必要的组织活检和一系列的治疗, 甚至导致血尿和尿路梗塞. 因此, 找到特异性良好的生物标志物用于早期筛查、疾病诊断和治疗进程监控尤为重要.

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) 是长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA, 不编码蛋白质, 在细胞核和细胞质中都有^[3]. 最近的研究发现, 人类基因组中表达 lncRNA 的基因大约有 60000 个^[4]. lncRNA 的功能和作用机制尚未阐明, 但已有的研究表明, lncRNA 在基因的转录、表观修饰、转录后翻译等过程中发挥着重要的作用^[3,5,6], 通过顺式作用或者反式调控影响其他基因的表达及功能^[7]. 此外, lncRNA 的异常表达与许多肿瘤的发生发展密切相关^[8~12], 通过调控细胞生长、迁移和侵袭等过程影响肿瘤的发生发展. 得益于 RNA 测序和微阵列芯片技术的发展, 前列腺癌中鉴定出了大量的 lncRNA^[13]. *PCA3* 是 lncRNA 中目前应用于临床筛选前列腺癌的生物标志物, 具有较好的特异性. 在根治性前列腺切除术样本中, *PCA3* 在前列腺癌中的表达是良性组织中的 10~100 倍^[14]. 在血清 PSA 含量超过 3 ng/mL 的情况下, 若同时检测得到尿液中的 *PCA3* 含量较高(中位值为 158.4×10^5 拷贝数/ μg 组织 RNA), 则推荐做组织活检^[15], 以辅助前列腺癌的检查 and 鉴定. *PCA3* 比 PSA 具有更好的特异性^[16~19]. *PCA3* 结合 PSA 检测, 能够更好地区分肿瘤和普通组织^[20,21]. 最近的研究还鉴定出了肺腺癌转移相关转录本 1(metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1, *MALAT-1*), 前列腺癌相关的 SWI/SNF 复合物拮抗剂 1(SWI/SNF complex antagonist associated with prostate cancer 1, *SchLAPI*), 前列腺癌相关转录本 1(prostate cancer associated transcript 1, *PCAT-1*)等 lncRNA^[22~26], 都在肿瘤中呈现高表达, 有望成为前列腺癌检测标志物. *MALAT-1* 能够很好地区分前列腺癌和良性前列腺增生^[25]. *SchLAPI* 在良性前列腺中无表达, 在侵袭性的前列腺癌中表达增加, *SchLAPI* 表达量高常伴随着生化复发率的提高, 侵袭的增加和前列腺癌特异性的死亡率上升^[22~24,27]. 鉴定出新型的指示前列腺癌病理分级特征的生物标志物对于前列腺癌的诊断及治疗具有深远的意义.

肿瘤基因图集(The Cancer Genome Atlas, TCGA) 项目组最初由美国国家肿瘤研究所(National Cancer Institute, NCI) 和美国国家人类基因组研究所

(National Human Genome Research Institute, NHGRI) 组成, 该数据库分析了大量的人类肿瘤样本的 DNA, RNA, 蛋白和表观遗传水平的分子表达^[28], 由肿瘤基因组、转录组、临床数据、表观基因组和蛋白组 5 个部分的数据组成, 提供了丰富的数据, 记录了超过 6000 个肿瘤病人样本的数据, 涵盖 33 种肿瘤类型的 37 条遗传或表观遗传和临床数据^[29], 已形成一个巨大的研究网络.

本研究首次在前列腺癌中阐明了长链非编码 RNA *LINC01126* 可以作为临床的诊断标志物. 利用 TCGA 数据库, 并进一步结合前列腺癌细胞系, 前列腺癌组织样本, 研究了 *LINC01126* 与前列腺癌临床病理进程的相关性. 为了研究 *LINC01126* 的调控模式, 进一步分析了 *LINC01126* 的共表达或相反表达的 mRNA, 及其生物学进程及相关的信号通路, 阐述了 *LINC01126* 与前列腺癌发生发展的关系.

1 材料与方法

1.1 数据库

从基因组数据库 Ensembl(<http://www.ensembl.org/index.html>) 下载了 *LINC01126* ENSG00000279873 及其转录本 *LINC01126-001* ENST00000623515 的数据. 在 TCGA 数据库(<http://tcga-data.nci.nih.gov/tcga/>) 下载了前列腺癌病人的 RNA 测序数据和对应病人的临床样本信息.

1.2 细胞株

人前列腺癌细胞株 LNCaP, 22Rv1, DU145, PC-3, 人前列腺正常细胞 WPMY-1 均由中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库提供.

1.3 临床样本收集

所有样本来自同济大学附属同济医院, 收集时间为 2001 年 1 月~2013 年 12 月. 上述前列腺癌病人接受了根治性前列腺切除术且此前没有接受过其他治疗. 上述肿瘤样本的组织病理学特征根据 Gleason 指数分类系统和 2002 肿瘤-结节-侵袭分类系统(tumor-node-metastasis classification system, TNM 分类系统)进行分类.

1.4 总 RNA 提取及转录

细胞 RNA 的抽提: 收集细胞, 10^7 个细胞加入 1

mL Trizol 溶液, 吹打混匀, 使细胞充分裂解, 静置 5 min; 加入 200 μ L 氯仿, 振荡混匀 30 s, 使水相和有机相充分接触, 室温静置 15 min; 4 $^{\circ}$ C, 10000 $\times$ g 离心 15 min, RNA 在上层水相, 移至另一个新的 RNasefree EP 管; 沉淀 RNA; 加入 0.5 mL 异丙醇, 轻柔地充分混匀, 室温静置 10 min; 4 $^{\circ}$ C, 10000 $\times$ g 离心 10 min, 收集 RNA 沉淀, 弃上清液; 用 75% 乙醇洗涤 2 次, 超净台风干; 加入 30 μ L 用焦碳酸二乙酯 (diethyl pyrocarbonate, DEPC) 处理过的水溶解沉淀。

样本 RNA 的抽提: 收集样本, 用手术刀切成小块, 30~50 mg 组织中加入 1 mL Trizol 溶液, 利用组织研磨器研磨 5 min, 使组织充分裂解, 静置 5 min; 加入 200 μ L 氯仿, 振荡混匀 30 s, 使水相和有机相充分接触, 室温静置 15 min; 4 $^{\circ}$ C, 10000 $\times$ g 离心 15 min, RNA 在上层水相, 移至另一个新的无 RNase 的 EP 管; 沉淀 RNA; 加入 0.5 mL 异丙醇, 轻柔地充分混匀, 室温静置 10 min; 4 $^{\circ}$ C, 10000 $\times$ g 离心 10 min, 收集 RNA 沉淀, 弃上清液; 用 75% 乙醇洗涤 2 次, 超净台风干; 加入 30 μ L DEPC 水溶解沉淀。

1.5 qRT-PCR

用 PrimeScriptRT 试剂盒 (TaKaRa, 日本) 反转录 2 μ g 的总 RNA, 获得 cDNA。以 cDNA 为模板, ACTB 为内参, 按荧光定量试剂盒操作说明进行扩增, 设置 3 个复孔, 采用荧光定量 PCR 检测系统 (美

国罗氏荧光定量 PCR 仪 LightCycler480) 进行实时定量分析。本文中用到的 *LINC01126* 引物为 5'-AGCG-TAAGGGTGGAGAAAGC-3' (正向) 和 5'-CTGAGG-TCACCTGCTCTTGG-3' (反向)。 *LINC01126* 的相对表达水平用 ACTB 表达量做内参。 *ZFP36L2* 引物为 5'-TCAGACCGGTGTAAACAAACC-3' (正向) 和 5'-TTTAAAAAGCTTATAGGTTTAGCAAGG-3' (反向), 所有实验重复 3 次。

1.6 统计分析

t-test 分析肿瘤, 癌旁组织及 Gleason 分级样本中 *LINC01126* 的表达差异。统计学差异定义为 $P < 0.05$, 所有统计都是双侧的。共表达分析采用 Pearson 相关性分析统计。全部统计均采用 SPSS 17.0 统计软件。

2 结果

2.1 TCGA 数据显示 *LINC01126* 在前列腺癌中显著高表达

为了寻找在前列腺癌中差异表达的长链非编码 RNA, 分析了 TCGA 数据库, 共收集 471 例样本, 其中包括 419 例前列腺癌组织样本和 52 例癌旁组织样本。结果显示, *LINC01126* 的表达量在肿瘤中显著上调 (图 1A, $P < 0.001$)。

图1 TCGA 数据库分析 *LINC01126* 的表达

A: *LINC01126* 在前列腺癌和正常组织中的表达; B: *LINC01126* 在前列腺癌不同 Gleason 分级样本中的表达分析; C: *LINC01126* 在不同前列腺癌病理分期 (TNM 分期) 样本中的表达分析

2.2 *LINC01126* 表达水平与前列腺癌临床分级显著相关

为了研究 *LINC01126* 表达与临床病理分级的相关性, 首先分析 52 例前列腺癌旁组织, 30 例 Gleason 6 样本, 193 例 Gleason 7 样本, 44 例 Gleason 8 样本和 71 例 Gleason 9 样本中 *LINC01126* 的表达水平(图 1B). 结果显示, 相比于癌旁组织, Gleason 8 样本和 Gleason 9 样本中的 *LINC01126* 表达水平显著增加 (Gleason 8, $P<0.001$; Gleason 9, $P<0.001$). 进一步的分析结果表明, *LINC01126* 的表达量与 Gleason 分级呈现正相关性, 相比于 Gleason 6 样本, Gleason 8 样本和 Gleason 9 样本中的 *LINC01126* 表达水平增加 (Gleason 8, $P<0.01$; Gleason 9, $P<0.05$). 同样, 相比于 Gleason 7 样本, Gleason 8 样本和 Gleason 9 样本中的 *LINC01126* 表达水平也显著增加 (Gleason 8, $P<0.001$; Gleason 9, $P<0.001$). 上述分析结果提示, *LINC01126* 能够较好地指示前列腺癌的 Gleason 分级. TNM 分类系统是恶性肿瘤分期的主要标准之一, 其中 T 分期是主要参照. 为了研究 *LINC01126* 的表达水平与前列腺癌病理分期的相关性, 分析了 144 个 T2a, T2b 和 T2c 的样本和 194 个 T3a, T3b 和 T4 样本(图 1C). 结果提示, *LINC01126* 在发生转移的前列腺癌中的表达量更高, 差异显著 ($P<0.01$). 然而, 与其

他的病理分级特征包括年龄, 手术前的 PSA 水平等都没有相关性(表 1, $P>0.05$).

2.3 *LINC01126* 在人类前列腺癌细胞系和肿瘤组织样本中高表达

前期的数据分析表明, *LINC01126* 在前列腺癌样本中高表达. 为了进一步进行验证, 用 qRT-PCR 在正常前列腺细胞系 WPMY-1 和前列腺癌细胞系 LNCaP, 22RV1, DU145 和 PC3 细胞系中检测 *LINC01126* 的表达量. 如图 2 所示, *LINC01126* 在 LNCaP 细胞系中的表达量(2.52 ± 0.15), 22RV1 细胞系中的表达量(1.75 ± 0.16), DU145 细胞系中的表达量(1.40 ± 0.16)和 PC-3 细胞系中的表达量(1.31 ± 0.13)高于前列腺正常细胞系 WPMY-1 中的表达量(1.00 ± 0.05)(图 2A). 为了验证上述细胞系中的结果, 在 14 个肿瘤样本及 10 个前列腺正常组织样本中检测 *LINC01126* 的表达量. 如图 1B 所述, 检测结果显示, *LINC01126* 在前列腺癌中的平均表达量显著高于正常的前列腺组织中的表达量($P<0.001$).

2.4 共表达分析揭示 *LINC01126* 的生物学功能以及可能影响的信号通路

由于 LncRNA 自身不能编码蛋白, 一般通过调控作用发挥其生物学效应. 为了揭示 *LINC01126* 的

表 1 前列腺癌病人中 *LINC01126* 表达水平与临床病理特征相关性分析^{a)}

特征	数量	<i>LINC01126</i> 的表达		P 值
		低	高	
年龄($n=338$)				
<60	144	72	74	0.563
>60	194	98	96	
病理期(pT) ($n=337$) ^{**}				
pT2a-pT2c	144	83	61	0.005
pT3a-pT4	193	86	107	
淋巴结状态($n=282$) [*]				
阳性	40	17	23	0.0106
阴性	242	123	119	
预操作 PSA 水平(ng/mL) ($n=340$)				
中值(范围)		9.540 $\pm$ 0.6728	11.82 $\pm$ 1.064	0.07
Gleason 得分($n=340$) ^{***}				
Gleason ≤ 7	223	132	132	<0.000
Gleason ≥ 8	117	38	79	
生化复发($n=223$)				
Yes(≥ 0.2 ng/mL)	86	9	77	0.0617
No(<0.2 ng/mL)137		122	15	

a) *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$

生物学功能, 首先利用 TCGA 数据库寻找所有 *LINC01126* 的显著正相关(共表达)或显著负相关(相反表达)mRNA, 这些基因有可能直接或间接与 LncRNA 的调控有关. 将前 1000 个 *LINC01126* 的共

表达基因进行 Gene Ontology 分析(GO 分析)和 KEGG 信号通路分析. GO 分析显示, *LINC01126* 影响了大量的生物进程, 包括 RNA 剪切、信号转导、氧化还原反应、mRNA 加工和离子转运等(图 3A). 信号通路分

图2 *LINC01126* 在前列腺细胞系及组织中的表达量

A: *LINC01126* 在前列腺正常细胞系 WPMY-1 和前列腺癌细胞系 LNCaP, 22RV1, DU145, PC3 中的表达; B: *LINC01126* 在前列腺癌及正常组织中的表达

图3 长链非编码 RNA *LINC01126* 的共表达分析

A: Gene Ontology 分析 *LINC01126* 前 1000 个共表达基因在生物进程中的影响; B: KEGG 分析 *LINC01126* 前 1000 个共表达基因对信号通路的影响

析显示, *LINC01126* 影响了大量的信号通路, 包括 Wnt 信号通路、MAPK 信号通路、胰岛素信号通路、Notch 信号通路和 GnRH 信号通路等(图 3B).

2.5 *LINC01126* 参与调控转录因子 *ZFP36L2* 的表达

越来越多的证据表明, lncRNA 会对其编码基因附近的基因存在调控作用^[30-32]. 通过 Ensembl 数据库检索, 发现 *LINC01126* 基因上下游存在两个编码蛋白的基因, *ZFP36L2* 和 *THADA*(图 4A). 结合 TCGA 数据库信息, 发现 *LINC01126* 的表达水平和 *ZFP36L2* 的表达水平呈现显著的正相关(图 4B 和 C), 与 *THADA* 的表达水平无显著相关性. 上述结果显示, *LINC01126* 可能通过顺式作用参与正调控 *ZFP36L2* 的表达.

为了进一步验证 *LINC01126* 是否调控转录因子 *ZFP36L2* 的表达, 通过 RT-PCR 在前列腺癌细胞系中进行了验证研究. 如图 4D 所示, 相比于前列腺正常细胞系 WPMY-1, *ZFP36L2* 在前列腺癌细胞系 LNCaP, 22RV1, DU145, PC3 中表达量显著上调 ($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$), 且与 *LINC01126* 的表达显著正相关(图 4E, $P<0.05$).

3 讨论

能够较好地区分肿瘤及良性组织是肿瘤临床标志物的主要标准之一. 前列腺癌生物标志物中, PSA 应用最为广泛. 虽然 PSA 在前列腺癌中表达量高, 但由于其在良性的前列腺组织中表达量同样很高而缺乏足够的特异性^[2]. 最近的研究鉴定出了一系列有望成为前列腺癌生物标志物的 lncRNA, 其中 *PCA3* 在肿瘤组织中表达量显著高于良性前列腺组织而具有较好的临床特异性^[15], 已进入临床应用. 本研究通过分析 TCGA 数据库中的 419 例前列腺癌组织样本和 52 例匹配的癌旁组织样本, 发现 *LINC01126* 的表达量在前列腺癌中显著上调(图 1A, $P<0.001$). 为了验证上述的结论, 用 RT-PCR 在 14 个肿瘤样本和 10 个前列腺正常组织样本中检测了 *LINC01126* 的表达. 结果显示, *LINC01126* 在前列腺癌中的平均表达量显著高于正常前列腺组织中的表达量(图 2B, $P<0.001$), 能够很好地区分肿瘤及良性前列腺组织.

Gleason 评分系统是指示前列腺癌病理分期及肿瘤预后一个行之有效的指标^[33], 对于前列腺癌的诊断及治疗都有重要的意义. 先前报道的前列腺癌生物标志物, *PCAT-1*^[26], *PSCA*^[34]在 Gleason 高的肿瘤样本中显著高表达, 但无法进一步细分 Gleason 分级. 为了研究 *LINC01126* 在不同 Gleason 分级样本中的表达量, 分析了 TCGA 数据库中的相关信息. 结果显示, 与正常组织相比, Gleason 8 和 Gleason 9 样本中的 *LINC01126* 的表达显著上调(图 1A). 进一步的研究发现, 分别与 Gleason 6 和 Gleason 7 样本相比, Gleason 8 和 Gleason 9 样本中 *LINC01126* 的表达量都显著上调(图 1B). 上述结果表明, *LINC01126* 能够很好地指示前列腺癌的 Gleason 分级.

LncRNAs 对蛋白表达的调控可以顺式调节(原位调控), 也可以反式调节(远程调控); 既可以是抑制表达, 又可以是激活表达^[7]. *LINC01126*(lncRNA-ENST00000623515)含单个外显子, 有 poly(A)结构, 位于 2 号染色体(2p21)正义链上. 通过对 *LINC01126* 与 mRNA 的表达相关性分析, 发现大量与 *LINC01126* 共表达或相反表达的基因, 影响了 RNA 剪切、信号转导等生物进程, 此外还影响了 Wnt 信号通路、MAPK 信号通路等信号通路, 而 *LINC01126* 是如何影响这些基因的表达还有待进一步研究. 在共表达基因中, 关注到 *LINC01126* 下游的基因 *ZFP36L2*. *ZFP36L2* 是 *ZFP36* 基因家族的一个重要成员, 该基因家族能够促进细胞凋亡. 此外, *ZFP36L2* 是细胞生长过程中发挥重要作用的一个转录因子^[35]. *ZFP36L2* 的表达与 *LINC01126* 的表达呈正相关关系. 推测可能 *LINC01126* 顺式正调控了 *ZFP36L2* 的表达, 与 *LINC01126* 相关表达的基因也有可能部分是受 *ZFP36L2* 转录调控的. 以上假设需要进一步的实验验证.

综上所述, 本研究首次报道了长链非编码 RNA *LINC01126*, 并阐明了 *LINC01126* 在前列腺癌中表达上调, 能够较好地区分良性的前列腺组织与前列腺癌组织, 统计学差异显著. 进一步的研究发现, *LINC01126* 在不同 Gleason 分级的前列腺癌样本中的表达差异显著, 能够在诊断和临床治疗中很好地指示前列腺癌的 Gleason 分级. 上述结果表明, *LINC01126* 有望成为前列腺癌新的生物标志物.

图4 *LINC01126* 促进 *ZFP36L2* 的表达

A: Ensembl 数据库分析 *LINC01126* 基因位置及其上下游编码蛋白的基因分析; B: 皮尔森相关分析 TCGA 数据库中 *LINC01126* 与 *ZFP36L2* 的表达相关性($n=419$, $P=0.0003$); C: *ZFP36L2* 表达与 *LINC01126* 表达量高低的相关性; D: 前列腺正常细胞系 WPMY-1 与前列腺癌细胞系 LNCaP, 22RV1, DU145, PC3 中 *ZFP36L2* 的表达量; E: 皮尔森相关分析前列腺正常细胞系 WPMY-1 与前列腺癌细胞系 LNCaP, 22RV1, DU145, PC3 中 *LINC01126* 与 *ZFP36L2* 表达的相关性($n=5$, $P<0.05$)

参考文献

- 1 Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2015. CA Cancer J Clin, 2015, 65: 5–29
- 2 Moyer V A. Screening for prostate cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. Ann Intern Med, 2012, 157:

120–134

- 3 Ponting C P, Oliver P L, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell*, 2009, 136: 629–641
- 4 Iyer M K, Niknafs Y S, Malik R, et al. The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome. *Nat Genet*, 2015, 47: 199–208
- 5 Shi X, Sun M, Liu H, et al. Long non-coding RNAs: a new frontier in the study of human diseases. *Cancer Lett*, 2013, 339: 159–166
- 6 Park J Y, Lee J E, Park J B, et al. Roles of long non-coding RNAs on tumorigenesis and glioma development. *Brain Tumor Res Treat*, 2014, 2: 1–6
- 7 Kornienko A E, Guenzl P M, Barlow D P, et al. Gene regulation by the act of long non-coding RNA transcription. *BMC Biol*, 2013, 11: 59
- 8 Gutschner T, Diederichs S. The hallmarks of cancer: a long non-coding RNA point of view. *RNA Biol*, 2012, 9: 703–719
- 9 Prensner J R, Chinnaiyan A M. The emergence of lncRNAs in cancer biology. *Cancer Discov*, 2011, 1: 391–407
- 10 Wang Y, Wang Y, Li J, et al. CRNDE, a long-noncoding RNA, promotes glioma cell growth and invasion through mTOR signaling. *Cancer Lett*, 2015, 367: 122–128
- 11 Feng S, Yao J, Chen Y, et al. Expression and functional role of reprogramming-related long noncoding RNA (lincRNA-ROR) in glioma. *J Mol Neurosci*, 2015, 56: 623–630
- 12 Guo H, Wu L, Yang Q, et al. Functional *linc-POU3F3* is overexpressed and contributes to tumorigenesis in glioma. *Gene*, 2015, 554: 114–119
- 13 Zhang X, Sun S, Pu J K, et al. Long non-coding RNA expression profiles predict clinical phenotypes in glioma. *Neurobiol Dis*, 2012, 48: 1–8
- 14 Bussemakers M J, van Bokhoven A, Verhaegh G W, et al. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res*, 1999, 59: 5975–5979
- 15 Hessels D, Klein G J, van Oort I, et al. DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol*, 2003, 44: 8–16
- 16 Haese A, de la Taille A, van Poppel H, et al. Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol*, 2008, 54: 1081–1088
- 17 Marks L S, Fradet Y, Deras I L, et al. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology*, 2007, 69: 532–535
- 18 Deras I L, Aubin S M, Blase A, et al. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol*, 2008, 179: 1587–1592
- 19 van Gils M P, Cornel E B, Hessels D, et al. Molecular PCA3 diagnostics on prostatic fluid. *Prostate*, 2007, 67: 881–887
- 20 Chun F K, de la Taille A, van Poppel H, et al. Prostate cancer gene 3 (PCA3): development and internal validation of a novel biopsy nomogram. *Eur Urol*, 2009, 56: 659–667
- 21 Auprich M, Haese A, Walz J, et al. External validation of urinary PCA3-based nomograms to individually predict prostate biopsy outcome. *Eur Urol*, 2010, 58: 727–732
- 22 Mehra R, Shi Y, Udager A M, et al. A novel RNA in situ hybridization assay for the long noncoding RNA *SChLAP1* predicts poor clinical outcome after radical prostatectomy in clinically localized prostate cancer. *Neoplasia*, 2014, 16: 1121–1127
- 23 Prensner J R, Iyer M K, Sahu A, et al. The long noncoding RNA *SChLAP1* promotes aggressive prostate cancer and antagonizes the SWI/SNF complex. *Nat Genet*, 2013, 45: 1392–1398
- 24 Prensner J R, Zhao S, Erho N, et al. RNA biomarkers associated with metastatic progression in prostate cancer: a multi-institutional high-throughput analysis of *SChLAP1*. *Lancet Oncol*, 2014, 15: 1469–1480
- 25 Ren S, Wang F, Shen J, et al. Long non-coding RNA metastasis associated in lung adenocarcinoma transcript 1 derived miniRNA as a novel plasma-based biomarker for diagnosing prostate cancer. *Eur J Cancer*, 2013, 49: 2949–2959
- 26 Prensner J R, Iyer M K, Balbin O A, et al. Transcriptome sequencing across a prostate cancer cohort identifies *PCAT-1*, an unannotated lincRNA implicated in disease progression. *Nat Biotechnol*, 2011, 29: 742–749
- 27 Prensner J R, Sahu A, Iyer M K, et al. The lncRNAs *PCGEM1* and *PRNCR1* are not implicated in castration resistant prostate cancer. *Oncotarget*, 2014, 5: 1434–1438
- 28 Weinstein J N, Collisson E A, Mills G B, et al. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. *Nat Genet*, 2013, 45: 1113–1120
- 29 Shi X, Yi H, Ma S. Measures for the degree of overlap of gene signatures and applications to TCGA. *Brief Bioinform*, 2015, 16: 735–744
- 30 Jiang W, Liu Y, Liu R, et al. The lncRNA *DEANR1* facilitates human endoderm differentiation by activating *FOXA2* expression. *Cell*

- Rep, 2015, 11: 137–148
- 31 Rinn J L, Chang H Y. Genome regulation by long noncoding RNAs. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 145–166
- 32 Ulitsky I, Bartel D P. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms. *Cell*, 2013, 154: 26–46
- 33 Pierorazio P M, Walsh P C, Partin A W, et al. Prognostic Gleason grade grouping: data based on the modified Gleason scoring system. *BJU Int*, 2013, 111: 753–760
- 34 Gu Z, Thomas G, Yamashiro J, et al. Prostate stem cell antigen (PSCA) expression increases with high gleason score, advanced stage and bone metastasis in prostate cancer. *Oncogene*, 2000, 19: 1288–1296
- 35 Stumpo D J, Byrd N A, Phillips R S, et al. Chorioallantoic fusion defects and embryonic lethality resulting from disruption of *Zfp36L1*, a gene encoding a CCCH tandem zinc finger protein of the Tristetraprolin family. *Mol Cell Biol*, 2004, 24: 6445–6455

Ectopic Expression of Long Non-Coding RNA *LINC01126* Affects Prostate Development

PU HongLei, WAN XueChao, ZHANG Pu, WANG Dan, WU Hai & LI Yao

Shanghai Engineering Research Center of Industrial Microorganisms, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China

Long non-coding RNA (lncRNA) plays an important role in the development of various diseases. Abnormal expression of lncRNAs is closely associated with tumorigenesis. In this study, we identified a long non-coding RNA, *LINC01126*, which was over-expressed in prostate cancer. *LINC01126* was found to be up-regulated in prostate cancer (419 samples, 52 controls, $P < 0.001$) by analyzing the Cancer Genome Atlas database. Compared with that in normal tissues, *LINC01126* expression was up-regulated in Gleason 8 and Gleason 9 samples (52 control; Gleason 8, $n = 44$, $P < 0.001$; Gleason 9, $n = 71$, $P < 0.001$). Further analysis showed that *LINC01126* was a significant indicator of prostate Gleason classification. *LINC01126* expression increased in Gleason 8 and 9 samples compared with that in Gleason 6 (Gleason 6, $n = 30$; Gleason 8, $n = 44$, $P < 0.01$; Gleason 9, $n = 71$, $P < 0.05$) and Gleason 7 samples (Gleason 7, $n = 193$; Gleason 8, $n = 44$, $P < 0.001$; Gleason 9, $n = 71$, $P < 0.001$). Additionally, our results showed that *LINC01126* was highly expressed in metastatic prostate cancer (144 T2a, T2b, and T2c samples, 194 T3a, T3b, and T4 samples, $P < 0.01$). We also identified genes that were negatively or positively regulated by *LINC01126* as well as their roles in biological processes and related pathways. In conclusion, our results suggest that *LINC01126* is a new molecular biomarker for the diagnosis of prostate cancer.

long non-coding RNA, *LINC01126*, prostate, biomarker

doi: 10.1360/N052016-00100