

tRNA 衍生小 RNA 在乳腺疾病中的研究进展

刘陆童 徐潮阳

转移 RNA (tRNA) 在蛋白质的翻译过程中起着重要作用, 在生物体内, DNA 被转录成 RNA 后, 由 tRNA 转运到特定部位进行蛋白质的合成。此外, tRNA 也是一种短的非编码 RNA 的来源, 这些短的非编码 RNA 被称为 tRNA 衍生的小 RNA (tsRNA)。tsRNA 在细胞过程中通过调节复杂的转译调节网络发挥关键作用, 在乳腺癌中充当重要角色。本文综述了 tsRNA 的生物分类和成因, 并讨论了 tsRNA 在乳腺癌中的作用及其临床应用潜力。

1 tsRNA 分类及来源

tRNA 是参与蛋白质生物合成的一种基本类型的 RNA, 由 D 环、T 环、变量环和反密码子环组成。它通过其反密码子识别 mRNA 中的密码子, 并将密码子带到核糖体中进行蛋白质的合成。tRNA 衍生小 RNA (tsRNA) 是通过精确调控 tRNA 降解产生的非编码 RNA (ncRNA)^[1], 根据不同的切割位点分为 tRNA 衍生片段 (tRF) 和 tRNA 半片段 (tiRNA)^[2]。tRF 是 14 到 32 个碱基长的高丰度 RNA^[3], 命名和分类基于各种细胞类型和生物体中前体和成熟 tRNAs 的裂解位置, 如 tRF-1、tRF-2、tRF-3、tRF-5 和 i-tRF。29 到 50 碱基长的 tiRNA 是在各种应激条件下通过血管生成素 (angiotensin, ANG) 或核酸酶作用于成熟 tRNA 的反密码子环产生的 5' 和 3' tRNA 半片段^[4]。

tsRNA 的生成需要包括 ANG 和 RNA 酶 Z (ribonuclease Z, RNaseZ) 在内的多种特异性核糖核酸内切酶^[5], 这些酶通过裂解前体 tRNA 产生 tRF-1^[6] 或者裂解成熟 tRNA 产生 tRF-2、tRF-3、tRF-5 和 i-tRF^[7]。根据切割部位不同, tRF-5 可进一步细分为 tRF-5a、tRF-5b 和 tRF-5c^[8]。tRF-5a 包含成熟 tRNA 的 5' 端到 D 环之间的序列, tRF-5b 和 tRF-5c 则包含成熟

tRNA 的 Dloop 和反密码子环之间的序列。tRF-3 是成熟 tRNA 的 T_ψC 环至 3' 端的序列, 根据切割位点不同分为 tRF-3a 和 tRF-3b, ANG 和 Dicer 是生成 tRF-3 的关键酶^[9]。tRF-1 来源于前体 tRNA 的 3' 端 (3' UTR), 也称为 3'U-tRF, 由 RNaseZ 裂解^[10]。tRF-2 在缺氧状态下由反密码子环产生^[11]。i-tRF 的片段来自成熟 tRNA 的内部区域, 根据反密码子环、可变区或 D 环中的裂解位点分别分为 A-tRF、V-tRF 和 D-tRF, 但其形成的具体机制尚不清楚^[12]。

tiRNA 的形成则依赖于缺氧等应激环境下 ANG 诱导成熟 tRNA 的反密码子环裂解, 分为两类, 即成熟 tRNA 的 5' 端到反密码子环的末端 (5'-tiRNA), 或从反密码子环开始到成熟 tRNA 的 3' 端 (3'-tiRNA)^[13], 1-甲基腺苷修饰 (m1A) 和 5-甲基胞苷修饰 (m5C) 等甲基化修饰参与其过程^[14]。有趣的是, 虽然以往的研究表明 tiRNA 都是在 ANG 切割下产生的, 但最近有研究发现某些 tiRNA 的产生依赖于核酸酶 L 的裂解, 在研究人员沉默 ANG 后发现源自 tRNA-His-GTG 的 5'-tiRNA 和来自 tRNA-Asp-GTC 的 3'-tiRNA 仍发生了改变^[9], 这提示血管紧张素并不是唯一能产生 tiRNA 的酶。除此之外, 并不是所有的 tiRNA 都是源自 tRNA 反密码子环分裂后产生的半片段, 研究表明这种分裂在体内主要发生在线粒体 tRNA 中, 在体外也可以产生多个大尺寸的 tiRNA, 这主要在于不同的切割位点, 而且不仅限于线粒体, 还包括细胞质 tRNA 转录物^[15]。

2 tsRNA 在乳腺癌中的作用机制

2.1 tsRNA 在缺氧条件下与某些靶点相互作用, 如转录激活因子-3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 或具有冷休克蛋白结构域的 RNA/DNA 结合多功能蛋白 (Y box binding protein 1, YBX1)、RNA 结合蛋白 (RNA binding protein, RBP) 介导乳腺癌的发生发展。据报道, 在缺氧环境

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2023.007.018

作者单位: 310012 浙江绍兴, 绍兴文理学院医学院 (刘陆童); 金华市中心医院乳腺甲状腺外科 (徐潮阳)

下,某些 tsRNA 可通过信号转导和 STAT3 磷酸化激活维持白介素-6 的反应性,再进一步通过某些下游途径增强三阴乳腺癌的化学抗性,如 tDR-0009 (tRNA-Gly-GCC-1-1 衍生的 tRF5) 和 tDR-7336 (tRNA-Gly-GCC-1-2 衍生的 tRF5)^[16];而缺氧条件下 tRNA-Asp、tRNA-Tyr、tRNA-Glu 和 tRNA-Gly 产生的 tsRNA 通过 YBX1 及 RBP 相互作用,取代乳腺癌中包括分化簇 151 (CD151) 在内的多个致癌转录物,进而抑制癌细胞的增殖^[17]。

2.2 tsRNA 通过信号通路介导乳腺癌的发展 在乳腺癌中显著低表达的 5'-tiRNAVal, 被证明可以抑制乳腺癌的进展,血清中 5'-tiRNAVal 含量与乳腺癌的进展及淋巴结转移呈负相关。它通过抑制卷曲受体 3 (frizzled 3, FZD3) 介导的乳腺癌细胞 Wnt/ β -Catenin 信号通路来抑制乳腺癌细胞的活动,当 5'-tiRNAVal 被过表达时, FZD3、 β -连锁蛋白、C-myc 癌基因和细胞周期蛋白 D1 水平下调,抗原提呈细胞水平上调^[18]。tRF-17 通过抑制下游靶点血小板反应素 1 介导的 TGF- β 1/smad3 信号通路来抑制乳腺癌细胞的侵袭和迁移,在 tRF-17 过表达的细胞中, THBS1、TGF- β 1、Smad3、p-Smad3 和上皮-间质转化相关基因 N-cadherin、MMP3、MMP9 明显下调^[19],这些可能都是 tRF-17 的相关靶点。

2.3 tsRNA 促进抑癌基因 p53 生成与释放 核仁蛋白 (nucleolin, NCL) 在乳腺癌中过表达,它能够抑制抑癌基因 p53 的 mRNA 翻译,而有些在乳腺癌中表达下调的 tsRNA 如 tRNA-glug-ttc 衍生的 tRF3E,它能够以高亲和力结合 NCL,从而促进 p53 的生成与释放来抑制癌细胞的增殖,在血清中与恶性肿瘤程度呈负相关^[20]。

2.4 性激素依赖性 tsRNA 刺激激素受体阳性乳腺癌细胞增殖 据报道,至少 70% 的乳腺癌被确定为雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 阳性,乳腺癌的进展依赖于雌激素激活的 ER^[21]。有些 tsRNA 对性激素反应,它们在 ER 阳性乳腺癌中表达升高,这些 tsRNA 被称为性激素依赖性 tRNA 衍生 RNA (shot-RNA),它们不受应激环境的诱导,由 ANG 切割 tRNA 后形成 5'-shotRNA 和 3'-shotRNA,当用 shot-RNA 靶向的小干扰 RNA (siRNA) 转染乳腺癌细胞时,癌细胞的增殖明显降低^[22],这表明 shot-RNA 可能刺激激素受体阳性乳腺癌细胞增殖。

3 乳腺癌中其他表达异常的 tsRNA

在乳腺癌中还存在其他一些表达异常的

tsRNA,例如表达上调的 tRNA-Val-CAC、tRNA-Val-IACC、tRNA-Gly-GCC、tRNA-Gly-CCC、tRNA-Glu-CUC、tRNA-Lys-CUU 和 tRNA-His-GUG 等 26 个 tsRNA^[23]及来源于 tRNA-Thr 和 tRNA-Leu 的 tRF-720、tRF-1260 和 tRF-1280。而一些在早期乳腺癌患者的血浆中被检测到表达下调的 tsRNA 如 tRF-Leu-CAA-003、tRF-Glu-CTC-003、tRF-Ser-TGA-001、tRF-Gly-CCC-008、tRF-Gly-CCC-007 和 tRF-Ser-TGA-002 及在三阴性乳腺癌中表达下调的 tDR-7816 则可以作为乳腺癌的新的生物诊断标志物。在另外一项对于三阴性乳腺癌的研究中, Feng 等^[24]研究发现 tDR-000620 与患者年龄和局部复发密切相关,在三阴性乳腺癌患者的癌细胞系和血清中表达水平下降,后续研究证明 tDR-000620 同样也可以作为预测三阴性乳腺癌复发的生物标志物和治疗靶点。

4 tsRNA 的在乳腺癌中的临床应用潜力

tsRNA 作为一种非编码 RNA,近年来在各种疾病中都得到了不同程度的研究,在乳腺癌中,它一方面可以通过相关下游靶点来抑制或者促进乳腺癌的进展,另一方面某些表达异常的 tsRNA 可以作为乳腺癌患者的诊断或者预后标志物,此外,还存在一些性激素依赖性 tsRNA,它们在 ER 阳性的乳腺癌中担任着重要角色。因为很多 tsRNA 不仅在乳腺癌肿瘤组织中表达失调,在乳腺癌患者血清样本中也存在表达失调的情况,这提示在未来可以利用 tsRNA 作为新的生物标志物,为临床乳腺癌诊治提供依据。虽然目前的研究已经发现了一些在乳腺癌中差异表达的 tsRNA 及初步探索了它们的功能,但这些研究仍然停留在表浅阶段,未来或许可以聚焦在缺氧条件下乳腺癌中异常表达的 tsRNA,更进一步挖掘出 tsRNA 的作用,为 tsRNA 的临床应用提供扎实的理论基础。

参考文献

- 1 Kumar P, Anaya J, Mudunuri SB, et al. Meta-analysis of tRNA derived RNA fragments reveals that they are evolutionarily conserved and associate with AGO proteins to recognize specific RNA targets[J]. BMC Biol, 2014, 12: 78.
- 2 Lu Z, Su K, Wang X, et al. Expression profiles of tRNA-derived small RNAs and their potential roles in primary nasopharyngeal carcinoma[J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 780621.

- 3 Gu X, Wang L, Coates PJ, et al. Transfer-RNA-Derived fragments are potential prognostic factors in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11: undefined.
- 4 Akiyama Y, Tomioka Y, Abe T, et al. In lysate RNA digestion provides insights into the angiogenin's specificity towards transfer RNAs[J]. *RNA Biol*, 2021, 18: 2546-2555.
- 5 Yamasaki S, Ivanov P, Hu GF, et al. Angiogenin cleaves tRNA and promotes stress-induced translational repression[J]. *J Cell Biol*, 2009, 185: 35-42.
- 6 Lee YS, Shibata Y, Malhotra A, et al. A novel class of small RNAs: tRNA-derived RNA fragments (tRFs) [J]. *Genes Dev*, 2009, 23: 2639-2649.
- 7 Yuan Y, Li J, He Z, et al. tRNA-derived fragments as new hallmarks of aging and age-related diseases[J]. *Ageing Dis*, 2021, 12: 1304-1322.
- 8 Kazimierczyk M, Wojnicka M, Biała E, et al. Characteristics of transfer RNA-derived fragments expressed during human renal cell development: The role of dicer in tRF biogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: undefined.
- 9 Su Z, Kuscu C, Malik A, et al. Angiogenin generates specific stress-induced tRNA halves and is not involved in tRF-3-mediated gene silencing[J]. *Biol. Chem*, 2019, 294 (45): 16930-16941.
- 10 Jia Y, Tan W, Zhou Y. Transfer RNA-derived small RNAs: Potential applications as novel biomarkers for disease diagnosis and prognosis[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8: 1092.
- 11 Yu X, Xie Y, Zhang S, et al. tRNA-derived fragments: Mechanisms underlying their regulation of gene expression and potential applications as therapeutic targets in cancers and virus infections[J]. *Theranostics*, 2021, 11: 461-469.
- 12 Wang X, Zhang Y, Ghareeb WM, et al. A comprehensive repertoire of transfer RNA-Derived fragments and their regulatory networks in colorectal cancer[J]. *J Comput Biol*, 2020, 27: 1644-1655.
- 13 Wang T, Cao L, He S, et al. Small RNA sequencing reveals a novel tsRNA-06018 playing an important role during adipogenic differentiation of hMSCs[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 12736-12749.
- 14 Rashad S, Han X, Sato K, et al. The stress specific impact of ALKBH1 on tRNA cleavage and tiRNA generation[J]. *RNA Biol*, 2020, 17: 1092-1103.
- 15 Rashad S, Tominaga T, Niizuma K. The cell and stress-specific canonical and noncanonical tRNA cleavage[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236: 3710-3724.
- 16 Cui Y, Huang Y, Wu X, et al. Hypoxia-induced tRNA-derived fragments, novel regulatory factor for doxorubicin resistance in triple-negative breast cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 8740-8751.
- 17 Goodarzi H, Liu X, Nguyen HC, et al. Endogenous tRNA-derived fragments suppress breast cancer progression via YBX1 displacement[J]. *Cell*, 2015, 161: 790-802.
- 18 Mo D, Jiang P, Yang Y, et al. A tRNA fragment, 5'-tiRNA, suppresses the Wnt/ β -catenin signaling pathway by targeting FZD3 in breast cancer[J]. *Cancer Lett*, 2019, 457: 60-73.
- 19 Mo D, He F, Zheng J, et al. tRNA-derived fragment tRF-17-79MP9PP attenuates cell invasion and migration THBS1/TGF- β 1/Smad3 axis in breast cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 656078.
- 20 Falconi M, Giangrossi M, Zabaleta ME, et al. A novel 3'-tRNA-derived fragment acts as a tumor suppressor in breast cancer by targeting nucleolin[J]. *FASEB J*, 2019, 33: 13228-13240.
- 21 Whitworth PW, Beitsch PD, Pellicane JV, et al. Distinct neoadjuvant chemotherapy response and 5-year outcome in patients with estrogen receptor-positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative breast tumors that reclassify as basal-type by the 80-gene signature[J]. *JCO Precis Oncol*, 2022, 6: e2100463.
- 22 Honda S, Loher P, Shigematsu M, et al. Sex hormone-dependent tRNA halves enhance cell proliferation in breast and prostate cancers[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: E3816-3825.
- 23 Zhang Y, Bi Z, Dong X, et al. tRNA-derived fragments: tRF-Gly-CCC-046, tRF-Tyr-GTA-010 and tRF-Pro-TGG-001 as novel diagnostic biomarkers for breast cancer[J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12: 2314-2323.
- 24 Feng W, Li Y, Chu J, et al. Identification of tRNA-derived small noncoding RNAs as potential biomarkers for prediction of recurrence in triple-negative breast cancer [J]. *Cancer Med*, 2018, 7: 5130-5144.

(收稿日期 2023-03-29)

(本文编辑 葛芳君)