

## • 国家基金研究进展综述 •

## tsRNAs与肿瘤关系的研究进展\*

何小雪<sup>①</sup> 樊希蕊<sup>①</sup> 黄芸<sup>①</sup> 王辉<sup>①②</sup>

**摘要** 转运RNA(transfer RNA, tRNA)衍生的小RNAs(transfer RNA-derived small RNAs, tsRNAs)是来源于成熟tRNA或tRNA前体的一类新兴的非编码单链RNAs,主要包括tRNA衍生片段(tRNA-derived RNA fragments, tRFs)和tRNA半分子(tRNA halves, tiRNAs)两类。tsRNAs在多种肿瘤中存在差异性表达,并且影响肿瘤的增殖、侵袭或转移过程,尽管其背后的机制尚未完全阐明,但有成为肿瘤新的生物标志物及治疗靶点的潜力。本文对tsRNAs与常见肿瘤的关系进行综述,以期对肿瘤的诊断、治疗及预防提供新思路。

**关键词** tsRNAs tRNA衍生片段 tRNA半分子 肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2020.02.197

## Advances in research on the relationship between tsRNAs and tumors

Xiaoxue He<sup>1</sup>, Xirui Fan<sup>1</sup>, Yun Huang<sup>1</sup>, Hui Wang<sup>1,2</sup>

Correspondence to: Hui Wang; E-mail: weihool@126.com

<sup>1</sup>Department of Gastroenterology, The Affiliated Yan An Hospital of Kunming Medical University, <sup>2</sup>Key Laboratory of Tumor Immunological Prevention and Treatment of Yunnan Province, Kunming 650051, China

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81860424)

**Abstract** Transfer RNA-derived small RNAs (tsRNAs) are an emerging class of non-coding single-stranded RNA that are derived from mature transfer RNA (tRNA) or tRNA precursors. They primarily consist of tRNA-derived RNA fragments (tRFs) and tRNA halves (tiRNAs). Studies have confirmed that tsRNAs are differentially expressed in a variety of tumors and involved in tumor processes including proliferation, invasion, and metastasis. Although the underlying mechanisms have not been fully elucidated, tsRNAs have the potential to be new biomarkers and therapeutic targets for tumors. This review provides an overview of the relationship between tsRNAs and common tumors to provide new ideas for the diagnosis, treatment, and prevention of tumors.

**Keywords:** tsRNAs, tRFs, tiRNAs, tumors

中国为人口大国,约占全球24%新发癌症病例和30%癌症死亡病例<sup>[1]</sup>。因此,亟需对中国常见癌症发生、发展分子机制开展深入的研究。自从在秀丽隐杆线虫中发现第一个小RNA(lin-4)后,非编码RNAs的研究不断涌现<sup>[2]</sup>,特别是其在多种癌症中的差异性表达受到广泛关注。转运RNA衍生的小RNAs(transfer RNA-derived small RNAs, tsRNAs)为来源于转运RNA(transfer RNA, tRNA)的一类新兴的非编码单链RNAs,目前已有研究发现,tsRNAs的表达变化与肿瘤的发生、发展、转移以及预防密切相关<sup>[3]</sup>。本文旨在对tsRNAs与常见肿瘤发生发展关系问题进行综述。

## 1 tsRNAs的来源、类型及生物学作用

### 1.1 tsRNAs的来源和类型

tRNA是将核酸的遗传信息翻译成蛋白质一级结

构的关键性生物大分子化合物,具有典型的三叶草型二级结构,包括氨基酸接受臂、D环、T $\psi$ C环、反密码子环与可变环。tRNA在不同内切酶的作用下,产生不同类型的tsRNAs。根据来源不同,主要分为两种类型:tRFs和tRNA半分子(tiRNAs),其中tRFs可分为tRF-1、tRF-2、tRF-3、tRF-5和内源性tRF(inter tRF, i-tRF)5类<sup>[4-6]</sup>。tRF-1由前体-tRNA的3'末端经核酸内切酶RNase Z或ELAC2切割产生,含有特征性的3'端多聚 $\mu$ 残基<sup>[7]</sup>;tRF-2是近年来在tRNA<sup>Glu</sup>、tRNA<sup>Asp</sup>、tRNA<sup>Gly</sup>和tRNA<sup>Tyr</sup>中新发现的,仅包含反密码子茎和环,通常在低氧条件下产生<sup>[2]</sup>;tRF-3是由Dicer、血管生成素(angiogenin, ANG)或其他核糖核酸酶在成熟tRNA的T $\psi$ C环上切割而成,其末端均含有特异性的CCA结构<sup>[3,8]</sup>;tRF-5由成熟tRNA的D环或D环与反密码子环之间裂解产生<sup>[9]</sup>;i-tRF来自

作者单位:①昆明医科大学附属延安医院消化内科(昆明市650051);②云南省肿瘤免疫防治研究重点实验室

\*本文课题受国家自然科学基金项目(编号:81860424)资助

通信作者:王辉 weihool@126.com

成熟 tRNA 的内部区域,包括反密码子环和部分 D-环和 T-环<sup>[3]</sup>。tiRNA 一般是低氧、饥饿等应激条件下产生的,哺乳动物中由成熟 tRNA 的反密码子环经 ANG 剪切形成,酵母细胞中由 Rny1p 剪切形成,约 31 ~ 40 nts,分为 5'tiRNA 和 3'tiRNA<sup>[10]</sup>。

## 1.2 tsRNAs 的生物学作用

tsRNAs 来源于非编码 RNA 家族,在生物界中广泛存在,参与调节细胞周期、转录及翻译、病毒复制、细胞凋亡等多种生物过程<sup>[11]</sup>。异常表达的 tsRNAs 可以通过不同机制在癌症中扮演抑癌基因或癌基因的角色。调控细胞增殖和细胞周期进展方面:有研究发现 tRFLeuCAG 可通过调节激酶的活性,从而促进癌细胞 G0/G1 期细胞周期的进展<sup>[12]</sup>;tRF-1001 参与诱导细胞周期从 G2 期细胞转变为 M 期,从而促进癌细胞增殖<sup>[13]</sup>。基因表达调控方面:依赖 Dicer 的 tRFs,尤其是与 AGO 蛋白(argonaute proteins, AGO)结合较弱的 5'tRF 可通过 3'末端保守的“GG”二核苷酸相互作用,抑制起始复合物从而抑制蛋白质的整体合成<sup>[14]</sup>;也有研究发现,部分 tsRNA 可通过竞争性与 RNA 结合蛋白 YBX1(Y-box binding protein 1, YBX1)结合取代致癌转录物,抑制癌基因的表达<sup>[15]</sup>;此外,tsRNAs 还可以通过 miRNA 的方式调控基因表达。CU1276 可作为一种 miRNA 参与抑制 B 淋巴瘤细胞增殖,并调节 DNA 损伤反应<sup>[16]</sup>;不依赖 Dicer 的 tRF-5 和 tRF-3 能与 RNA 沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)的效应分子 AGO 蛋白(GW182/TNRC6 蛋白)结合,通过与 3'非翻译区(3'untranslated region, 3'UTR)互补结合,在转录后水平调控基因表达。tRFs 这种能以类似 miRNA 的序列特异性方式调节生物学进程,进一步扩展了 tRFs 的调控谱,增加影响肿瘤细胞增殖和细胞周期的能力<sup>[17-18]</sup>。病毒复制方面,tsRNAs 可以作为病毒 RNA 逆转录的指导 RNA。如宿主细胞中的 tRF-3019 可与人 T 细胞白血病病毒 1 型(human T-cell leukemia virus type 1, HTLV-1)的 RNA 引物结合位点(primer binding site, PBS)结合,从而启动逆转录,促进病毒的合成<sup>[19]</sup>。此外,应激状态下 ANG 诱导产生的 tiRNAs,不仅可刺激血管内皮细胞参与肿瘤血管生成,还参与核糖体 RNA 的生物发生,满足癌细胞持续生长所需的高代谢要求。目前,已在多种动物模型中发现 ANG 抑制剂可以抑制癌症进展<sup>[20]</sup>。

## 2 tsRNAs 在癌症中的研究进展

### 2.1 tsRNAs 与非小细胞肺癌的关系

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)为最常见的恶性肿瘤之一,5 年生存率仅为 15%<sup>[22]</sup>。Shao 等<sup>[12]</sup>观察到 tRFLeuCAG 在 NSCLC 组织细胞中的表达明显高于正常组织,并与癌症分期呈正相关,尤其在 NSCLC IV 期特异性极高,具有作为 NSCLC IV 期患者的诊断标

志物的潜力。用 tRFLeuCAG 抑制剂转染 H1299 细胞, H1299 细胞停留在 G0/G1 期,细胞增殖能力逐步下降,反向证实了 tRFLeuCAG 有加速 NSCLC 进程的作用。此外,通过培养转染 tRFLeuCAG 抑制剂的 H1299 细胞发现,极光激酶 A(aurora kinases A, AURKA)的表达也显著下调,AURKA 是一种蛋白激酶,在有丝分裂中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。由此可见, tRFLeuCAG 可能是通过激活 AURKA 的活性,从而加速癌细胞的 G0/G1 细胞周期的进展,进一步说明了 tRFLeuCAG 很有可能成为 NSCLC 新的诊断标记物和潜在治疗靶点。

### 2.2 tsRNAs 与乳腺癌的关系

乳腺癌(breast cancer, BC)是女性常见的恶性肿瘤。有研究发现,缺氧时诱导产生的 tRFs 通过转录后调控机制可能有抑制乳腺癌进展的作用。目前,已知的该类 tRFs 主要来自 tRNAGlu、tRNAAsp 和 tRNAGly,其在应激条件下通过与致癌转录本竞争性结合 YBX1,取代内源性致癌基因,拮抗 YBX1 的活性,从而抑制肿瘤的转移<sup>[15]</sup>。YBX1 是一种多功能 RNA 结合蛋白,在多种肿瘤中高表达,可结合体内多种转录本,稳定致癌基因并介导其表达增强,加快肿瘤发展进程<sup>[23]</sup>。其与 tRFs 的相互作用具有特异性,在缺氧条件下增强,而高转移性的乳腺癌细胞通过减弱该类 tRFs 的诱导来逃避这种肿瘤抑制途径。此外,TRFs 还能以依赖 YBX1 的方式干扰翻译起始因子 EIF4G 来抑制翻译<sup>[15]</sup>,从而抑制癌蛋白的表达。

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)为乳腺癌最具有侵袭性的亚型<sup>[24]</sup>。Telonis 等<sup>[25]</sup>研究发现, tRFs 在 TNBC 中存在差异性表达,该类 tRFs 大多来自核 tRNAGlyGCC、tRNAHisGTG 和线粒体 tRNAValTAC,在特定的生物背景下可加载到 AGO 蛋白上,通过 RNA 干扰途径直接靶向 mRNAs,破坏乳房正常的分子生物学指标,导致肿瘤相关蛋白显著上调;此外, tRFs 还可通过诱捕 RNA 结合蛋白直接调控 mRNA 丰度,破坏 mRNA 与 tRFs 的协同关联,从而影响了转移相关性 MAPK 和 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路,增加了肿瘤转移的可能性,有成为 TNBC 潜在的诊断标志物和治疗靶点的潜力。但 tRFs 在不同性别、组织、或种族的个体中,其表达丰度不同,尤其是 i-tRFs,在 TNBC 中的表达具有明显的组织特异性和种族特异性<sup>[25-26]</sup>,但其临床应用价值尚待进一步研究证实。

### 2.3 tsRNAs 与结直肠癌的关系

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是癌症相关死亡的第三大原因<sup>[22]</sup>。有研究发现, tRF/miR-1280 通过靶向抑制 JAG2 调控 Notch 通路,降低转录因子 Gata(主要是 Gata1)的表达水平,从而使 miR-200b 表达上调,抑制肿瘤上皮间充质转化,从而抑制癌细胞的

增殖及转移<sup>[27]</sup>。JAG2是与细胞增殖、细胞周期、迁移、黏附、侵袭、凋亡和细胞分化相关的基因,可通过调节癌细胞的自我更新促进癌症转移<sup>[28]</sup>。Notch信号通路在细胞发育过程中控制细胞命运和信号整合,与肿瘤干细胞的自我更新、增殖和干细胞样表型等多种特征密切相关;可见,tRF/miR-1280是CRC细胞Notch信号通路的主要调控因子,也是CRC肿瘤干细胞生长和功能的重要调控因子,将tRF/miR-1280引入癌细胞可能是逆转肿瘤进展的一种新方法<sup>[27]</sup>。

#### 2.4 tsRNAs与前列腺癌的关系

前列腺癌(prostate cancer, PCa)为常见的男性泌尿系统恶性肿瘤。有研究表明,tRFs与PCa的发生、发展有关<sup>[29]</sup>。在饥饿、氧化等应激条件下,tRFs显著上调,促进应激颗粒组装,通过负调控mTORC1过度活化诱导的细胞凋亡而在PCa发展中发挥重要作用<sup>[30]</sup>。通过分析不同级别PCa中tRFs的差异性表达发现,tRF-544在高级别(格里森评分 $\geq 7$ )肿瘤组中表达较低,复发性患者tRF-544持续下调,而tRF-315在复发性疾病中有明显的上调趋势,在高级别肿瘤中表达更高。提示tRF-315和tRF-544的表达率可以有效区分高、低级别前列腺癌,并可为复发性侵袭性前列腺癌的早期检测提供了新的候选生物标志物<sup>[30]</sup>。此外,Honda等<sup>[31]</sup>观察到在雄激素受体阳性的PCa中,tiRNAs以性激素依赖的方式大量表达,5'-tiRNA<sup>sp</sup>GUC和5'-tiRNA<sup>his</sup>GUG的水平显著升高,而在无雄激素培养的PCa细胞系中,5'tiRNAs的含量降低,同时,敲除5'tiRNAs会阻碍癌细胞的生长,这说明5'tiRNAs是激素依赖性前列腺癌细胞增殖的一大重要影响因素。

#### 2.5 tsRNAs与肝癌的关系

众所周知,病毒感染在肝癌发病中起重要作用,其中最常见的是慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)或丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)<sup>[1]</sup>;有证据显示,tRF U3家族中,具有3'U尾的tRF有显著抑制HCV-IRES(internal ribosome entry site, IRES)介导的翻译作用,降低HCV-RNA的滴度,调控病毒基因表达<sup>[32]</sup>。此外,有研究发现,LeuCAG3'tsRNA在肝癌中表达上调,在体外和小鼠原位肝细胞癌模型中,抑制LeuCAG3'tsRNA的表达可以诱导癌细胞凋亡<sup>[21]</sup>;Kim等<sup>[21]</sup>进一步研究显示,LeuCAG3'tsRNA敲低的表型效应是由于特异性小核糖体蛋白RPS28表达降低,进而破坏18S rRNA成熟并最终诱导细胞凋亡,从而抑制肿瘤细胞的生长,在肝癌进程中发挥重要作用。

#### 2.6 tsRNAs与胃癌的关系

近期一项研究发现,胃癌(gastric cancer, GC)患

者的癌组织及血浆中也存在tRFs和tiRNAs的异常表达<sup>[33]</sup>。目前,暂无胃癌方面的详细报道,进一步探索特异性胃癌相关的tsRNAs,完善其影响胃癌发生发展的作用机制,将给胃癌的诊疗带来重大突破。

#### 3 展望

tsRNAs是在特定条件下产生的功能性调控分子,在肺癌、乳腺癌、结直肠癌、肝癌和前列腺癌等多种肿瘤中存在异常表达,并且在一定程度上影响肿瘤发展进程。目前,其生物发生机制及临床价值尚未明确;tsRNAs是在特定条件下产生的,其具体的机制尚未清晰,关于tsRNAs分类尚无统一标准,tsRNAs在一定程度上影响肿瘤进程,但是否可以作为特异性肿瘤标记物或治疗靶点还需深入研究其靶标、上游分子及下游分子之间的调控网络,并对其进行技术干预或药物干预等相关研究;tRFs在不同性别、组织、或种族的个体中,其表达丰度亦大不相同,这其中是否有特异性关联尚待进一步研究确认。综上所述,tsRNAs在肿瘤中的异常表达,使其在肿瘤的发生发展中发挥重要的调节作用,为肿瘤的诊断、治疗及预防开辟新方向。

#### 参考文献

- [1] Feng RM, Zong YN, Cao SM, et al. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics[J]? Cancer Commun (Lond), 2019, 39(1):363-385.
- [2] Kumar P, Kuscu C, Dutta A. Biogenesis and function of transfer RNA-related fragments (tRFs) [J]. Trends in Biochemical Sciences, 2016, 41(8):679-689.
- [3] Zhu L, Liu X, Pu W, et al. tRNA-derived small non-coding RNAs in human disease[J]. Cancer Lett, 2018, (419):1-7.
- [4] Zhu L, Ge J, Li T, et al. tRNA-derived fragments and tRNA halves: The new players in cancers[J]. Cancer Lett, 2019, (452):31-37.
- [5] Sun C, Fu Z, Wang S, et al. Roles of tRNA-derived fragments in human cancers[J]. Cancer Letters, 2017, (414):16.
- [6] Li S, Xu Z, Sheng J. tRNA-derived small RNA: a novel regulatory small non-coding RNA[J]. Genes (Basel), 2018, 9(5):246-261.
- [7] Lee YS, Shibata Y, Malhotra A, et al. A novel class of small RNAs: tRNA-derived RNA fragments (tRFs) [J]. Genes Dev, 2009, 23(22): 2639-2649.
- [8] Maraia RJ, Lamichhane TN. 3' processing of eukaryotic precursor tRNAs[J]. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2011, 2(3):362-375.
- [9] Cole C, Sobala A, Lu C, et al. Filtering of deep sequencing data reveals the existence of abundant Dicer-dependent small RNAs derived from tRNAs[J]. RNA, 2009, 15(12):2147-2160.
- [10] Venkatesh T, Hussain SA, Suresh PS. A tale of three RNAs in mitochondria: tRNA, tRNA derived fragments and mitomiRs[J]. J Theoretic Biol, 2017, (435):42-49.
- [11] Fu Y, Lee I, Lee YS, et al. Small non-coding transfer RNA-derived RNA fragments (tRFs): their biogenesis, function and implication in human diseases[J]. Genomics Inform, 2015, 13(4):94-101.
- [12] Shao Y, Sun Q, Liu X, et al. tRF-Leu-CAG promotes cell proliferation and cell cycle in non-small cell lung cancer[J]. Chem Biol Drug Des,

- 2017, 90(5):730-738.
- [13] Balatti V, Pekarsky Y, Croce CM. Role of the tRNA-derived small RNAs in cancer: new potential biomarkers and target for therapy [J]. *Adv Cancer Res*, 2017, (135):173-187.
- [14] Sobala A, Hutvagner G. Small RNAs derived from the 5' end of tRNA can inhibit protein translation in human cells[J]. *RNA Biol*, 2013, 10(4):553-563.
- [15] Goodarzi H, Liu X, Nguyen HC, et al. Endogenous tRNA-derived fragments suppress breast cancer progression via YBX1 displacement [J]. *Cell*, 2015, 161(4):790-802.
- [16] Maute RL, Schneider C, Sumazin P, et al. tRNA-derived microRNA modulates proliferation and the DNA damage response and is down-regulated in B cell lymphoma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(4):1404-1409.
- [17] Soares AR, Santos M. Discovery and function of transfer RNA-derived fragments and their role in disease[J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2017, 8(5):1-13.
- [18] Canan K, Pankaj K, Manjari K, et al. tRNA fragments (tRFs) guide Ago to regulate gene expression post-transcriptionally in a Dicer-independent manner[J]. *RNA*, 2018, 24(8):1093-1105.
- [19] Ruggero K, Guffanti A, Corradin A, et al. Small noncoding RNAs in cells transformed by human T-cell leukemia virus type 1: a role for a tRNA fragment as a primer for reverse transcriptase[J]. *J Virol*, 2014, 88(7):3612-3622.
- [20] Li S, Hu GF. Emerging role of angiogenin in stress response and cell survival under adverse conditions[J]. *J Cellular Physiol*, 2012, 227(7):2822-2826.
- [21] Kim HK, Fuchs G, Wang S, et al. A transfer-RNA-derived small RNA regulates ribosome biogenesis[J]. *Nature*, 2017, 552(7683):57-62.
- [22] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019[J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(1):7-34.
- [23] Suresh PS, Tsutsumi R, Venkatesh T. YBX1 at the crossroads of non-coding transcriptome, exosomal, and cytoplasmic granular signaling [J]. *Eur J Cell Biol*, 2018, 97(3):163-167.
- [24] Marotti JD, de Abreu FB, Wells WA, et al. Triple negative breast cancer: next-generation sequencing for target identification[J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(10):2133-2138.
- [25] Telonis AG, Rigoutsos I. Race disparities in the contribution of miRNA isoforms and tRNA-derived fragments to triple-negative breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(5):1140-1154.
- [26] Telonis AG, Loher P, Jing Y, et al. Beyond the one-locus-one-miRNA paradigm: microRNA isoforms enable deeper insights into breast cancer heterogeneity[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(19):9158-9175.
- [27] Huang B, Yang H, Cheng X, et al. tRF/miR-1280 suppresses stem cell-like cells and metastasis in colorectal cancer[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(12):3194-3206.
- [28] Van de Walle I, De Smet G, Gartner M, et al. Jagged2 acts as a Delta-like Notch ligand during early hematopoietic cell fate decisions[J]. *Blood*, 2011, 117(17):4449-4459.
- [29] Magee RG, Telonis AG, Loher P, et al. Profiles of miRNA isoforms and tRNA fragments in prostate cancer[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):5314.
- [30] Olvedy M, Hoogstrate Y, Visakorpi T, et al. A comprehensive repertoire of tRNA-derived fragments in prostate cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(17):24766-24777.
- [31] 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 U S A*, 2015, 112(29):E3816-3825.
- [32] Cho H, Lee W, Kim GW, et al. Regulation of La/SSB-dependent viral gene expression by pre-tRNA 3' trailer-derived tRNA fragments[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(18):9888-9901.
- [33] 朱林文, 谢依, 郭俊明. tRNA 衍生片段和 tRNA 半分子的生物学功能及其在疾病发生中的作用[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2017, 44(07):24-31.

(2019-10-03 收稿)

(编辑:孙喜佳 校对:张艳辉)

#### 作者简介

何小雪 专业方向为消化道疾病的研究。

E-mail:hxxcq2@163.com

