

Dlouhé nekódující RNA a jejich význam u nádorových onemocnění

Long Non-Coding RNAs And Their Relevance in Cancer

Šána J.^{1,2}, Faltejsová P.^{1,2}, Svoboda M.^{1,2,3}, Slabý O.^{1,2}

¹ CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU Brno

² Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

³ Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Většinu eukaryotického genomu představují DNA sekvence, které nekódují proteiny. Tyto sekvence jsou přepisovány buď podle vývojového programu daného organismu nebo v rámci odpovědi na vnější signály. Výsledkem transkripce takových sekvencí je pak velké množství dlouhých nekódujících RNA (lncRNA). Celogenomové studie předpokládají existenci více než 3 300 lncRNA. Dlouhé nekódující RNA jsou definovány jako molekuly nekódujících RNA o délce více než 200 nukleotidů. Vzhledem k vysoké míře komplexnosti a rozmanitosti těchto sekvencí byl nárůst poznání v této oblasti relativně pomalý. Ačkoli bylo dosud funkčně charakterizováno pouze omezené množství lncRNA, jejich regulační potenciál je již dnes evidentní. lncRNA hrají klíčové role jak v transkripčních, tak v post-transkripčních regulačních drahách. U mnoha nádorových onemocnění dochází k deregulaci lncRNA, což společně s jejich funkčními vlastnostmi naznačuje jejich významný potenciál v procesech maligní transformace. Tento přehledový článek je zaměřen na shrnutí nedávno objevených skupin lncRNA, popis jejich biologických funkcí a zejména na jejich význam v nádorové biologii a translačním onkologickým výzkumu.

Klíčová slova

dlouhé nekódující RNA – lincRNA – pseudogeny – T-UCR – nádorová onemocnění

Summary

A major portion of the eukaryotic genome is occupied by DNA sequences; transcripts of these sequences do not code for proteins. This part of the eukaryotic genome is transcribed in a developmentally regulated manner or as a response to external stimuli to produce large numbers of long non-coding RNAs (lncRNAs). Genome-wide studies indicate the existence of more than 3,300 lncRNAs. Long non-coding RNAs are tentatively defined as molecules of ncRNAs that are more than two hundred nucleotides long. Due to the complexity and diversity of their sequences, progress in the field of lncRNAs has been very slow. Nonetheless, lncRNAs have emerged as key molecules involved in the control of transcriptional and posttranscriptional gene regulatory pathways. Although limited numbers of functional lncRNAs have been identified so far, the immense regulatory potential of lncRNAs is already evident, emphasizing that a genome-wide characterization of functional lncRNAs is needed. The fact that many lncRNAs are deregulated in various human cancers, together with their functional characteristics, implies their eminent role in carcinogenesis. In this review, we summarize novel classes of lncRNAs, describe their biological functions emphasizing their roles in tumor biology and translational oncology research.

Key words

long non-coding RNAs – lincRNA – pseudogenes – T-UCR – cancer

Práce byla podpořena granty IGA MZČR NT11214-4/2010, NT13514-4/2012, NT/13549, NT/13860, NT/13585, a prostředky institucionální podpory výzkumné organizace poskytnuté Ministerstvem zdravotnictví ČR v roce 2012.

This study was supported by grants of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT11214-4/2010, NT13514-4/2012, NT/13549, NT/13860 and NT/13585 and by Institutional Resources for Supporting the Research Organization provided by the Czech Ministry of Health in 2012.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasláné do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.

Klinika komplexní onkologické péče

Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: on.slaby@gmail.com

Obdrženo/Submitted: 30. 6. 2012

Přijato/Accepted: 3. 8. 2012

Úvod

Centrální dogma molekulární biologie popisující vztah mezi genetickou informací a jejím fenotypovým vyjádřením pohlíží na RNA především jako na spojovací článek mezi DNA a proteinem. Tímto spojovacím článkem je primárně myšlena kódující mediátorová RNA (mRNA) určující pořadí aminokyselin v peptidovém řetězci. Avšak v samotném procesu translace jsou přímo zapojeny rovněž nekódující RNA (ribozomální a transferová RNA). Kromě toho je obecně akceptováno, že zásadní roli v biologii buňky hrají i další nekódující RNA, jako jsou například malé jaderné RNA účastnící se posttranskripčního sestřihu anebo malé jadéřkové RNA zapojené do posttranskripční modifikace ribozomální RNA.

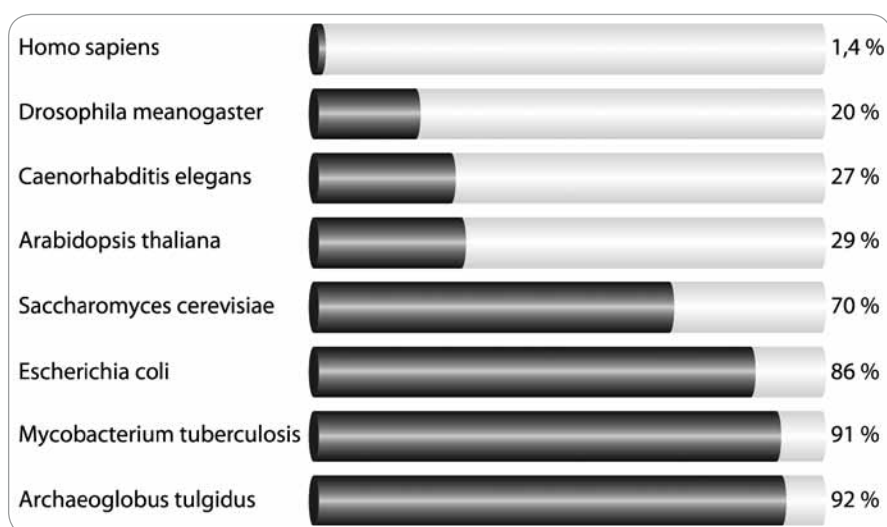
Na základě analýzy prvních zcela osekvenovaných prokaryotických genomů se předpokládalo, že většina genetické informace definující biologickou formu a fenotyp je exprimována ve formě proteinů, které mají nejen strukturální, ale také katalytické a regulační funkce [1]. Pokročilé čipové a sekvenční technologie umožňující vysokokapacitní celogenomové analýzy však odhalily, že tato skutečnost není zcela platná u eukaryotických organismů. Jedním z největších překvapení moderní biologie byl objev, že lidský genom obsahuje pouze asi 20 000 protein-kódujících genů, což reprezentuje méně než 2 % jeho celkové kapacity (obr. 1). Neméně překvapivé bylo také zjištění, že nejméně 90 % ge-

nomu je transkripčně aktivních. Lidský transkriptom tedy zdaleka neobsahuje pouze sekvence protein-kódujících genů a jejich sestřihových variant, ale je v něm nepochybně větší množství nekódujících RNA [1,2]. Obecně lze říci, že čím více je organizmus komplexní, tím větší počet nekódujících RNA jeho genom obsahuje. Nejprve byly tyto nekódující transkripty považovány za evolučně nahromaděný genetický odpad vzniklý při časné sestavování genů nebo insercí mobilních genetických elementů. Nedávné výzkumy ovšem prokázaly, že tyto nekódující RNA hrají zásadní role v buněčném vývoji, fyziologii, ale také patologiích. Tuto domněnku podporuje mimo jiné fakt, že většina chromatin modifikujících komplexů postrádá schopnost vázat DNA. Na regulaci genové exprese a tedy kontrolách buněčných funkcí se tak musejí podílet další molekuly, mezi které nepochybně patří právě nekódující RNA. Příkladem takové nekódující RNA je *Xist*, která je nezbytná pro navázání chromatin modelujících komplexů na chromozom X zajišťujících jeho inaktivaci v samičích somatických buňkách [4]. Obecně mohou nekódující RNA regulovat genovou expresi přímo, a nebo mohou zprostředkovávat zmíněnou vazbu mezi proteinovými komplexy a DNA, což je činí nenahraditelnou součástí systému buněčných regulací [2–4].

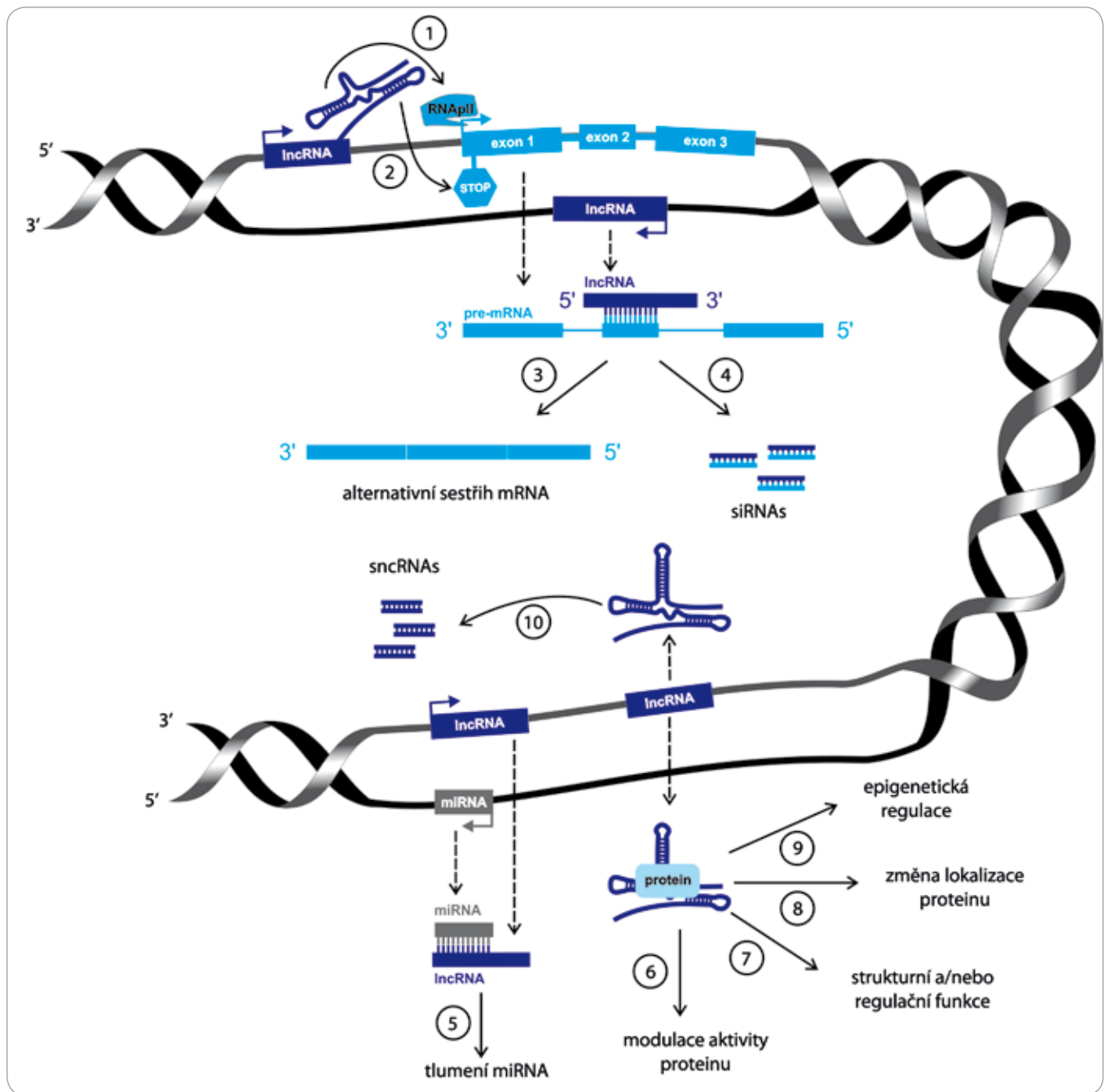
Dnešní vnímání regulačních funkcí dlouhých nekódujících RNA bylo významně ovlivněno pracemi Johna S. Mat-

ticka z univerzity v Queenslandu, který patří mezi průkopníky myšlenky, že proteiny představují pouze minoritní část informačních výstupů eukaryotického genomu [3].

Nekódující RNA se dělí na základě své velikosti na dvě hlavní skupiny – krátké nekódující RNA a dlouhé nekódující RNA (lncRNA). Zatímco krátké nekódující RNA dosahují délky maximálně několika desítek bází, lncRNA jsou transkripty podobné mRNA o délce od 200 nt, nicméně velmi často přesahující 100 kb. Avšak narozdíl od kódující RNA obsahují lncRNA pouze krátké otevřené čtecí rámce, nebo je zcela postrádají, což zneumožňuje jejich účinný překlad do proteinu. Mnoho identifikovaných lncRNA je přepisováno RNA polymerázou II (RNAPII), následně sestřihováno, některé z nich mají polyadenylovány 3' konce a obsahují 5' čepičku [2]. Jiné lncRNA jsou však díky struktuře svých promotorových sekvencí přepisovány spíše RNA polymerázou III (RNAPIII) [5]. Z dosavadního výzkumu rovněž vyplývá, že lncRNA jsou velmi často komplementární ke kódujícím RNA řetězcům a jejich promotory jsou regulovány jak transkripčními faktory, tak epigeneticky pomocí specifických modifikací histonů [6]. Exprese lncRNA může být vývojově a tkáňově specifická a samotné molekuly jsou spojovány se širokým spektrem buněčných procesů, jako jsou alternativní sestřih, modulace proteinové aktivity, změny proteinové lokalizace a epigenetické regulace. lncRNA mohou být prekurzory krátkých nekódujících RNA nebo naopak součástí mechanismu jejich umlčení [7–13]. Nicméně jejich hlavní úloha se zdá být přímo v regulaci genové exprese, a to jak na transkripční, tak post-transkripční úrovni (obr. 2) [14]. Není proto překvapující, že deregulovaná exprese lncRNA byla pozorována u mnoha multifaktoriálně podmíněných chorob, včetně nádorových onemocnění, ischemické choroby srdeční [15] a Alzheimerovy choroby [16], a je se vznikem a progresí těchto onemocnění funkčně asociována [2]. lncRNA proto představují novou třídu potenciálních biomarkerů a terapeutických cílů u těchto onemocnění [17–20].



Obr. 1. Zastoupení protein-kódujících sekvencí u vybraných eukaryotických a bakteriálních genomů. Upraveno podle [17].



Obr. 2. Schematické znázornění funkce lncRNA.

lncRNA mohou ovlivňovat genovou expresi negativně – inhibicí RNA polymerázy II (1) nebo pozitivně – remodelací chromatinu (2). lncRNA jsou schopné hybridizovat s pre-mRNA, a blokovat tak některá jejich sestřihová místa, a tak může následně dojít k alternativnímu sestřihu primárního transkriptu (3). Zároveň může být vzniklý duplex zpracováván pomocí ribonukleázy Dicer za vzniku endogenních siRNA (4). Vazba lncRNA k mikroRNA má za následek funkční umlčení mikroRNA (5). Komplex lncRNA se specifickým proteinem může modulovat aktivitu tohoto proteinu (6), být zapojen do strukturálních a organizačních rolí buňky (7), změnit lokalizaci proteinu (8) a ovlivňovat epigenetické procesy (9). lncRNA mohou být rovněž samy procesovány do krátkých nekódujících RNA (10).

Tento článek je zaměřen na celkový přehled nedávno objevených skupin lncRNA, jejich biologické funkce a zejména na jejich význam v nádorové biologii a translačním onkologickém výzkumu (tab. 1).

Dlouhé mezigenové nekódující RNA

Dlouhé mezigenové nekódující RNA (long non-coding RNA – lincRNA) jsou nově objevenou třídou lncRNA. RNA

této třídy jsou dlouhé od několika stovek až po několik desítek tisíc bází a v genomu se nacházejí vždy mezi dvěma geny. Doposud bylo identifikováno více než 3 000 lidských lincRNA, avšak méně

Tab. 1. Hlavní třídy dlouhých nekódujících RNA. Upraveno podle [17].

Třída	Charakteristika	Asociace s onemocněním / biologická funkce
dlouhé mezigenové nekódující RNA	délka od několika stovek až po desítky tisíc nt; v genomu umístěny mezi dvěma geny	zapojení v tumorigenezi a nádorovém metastazování / regulace genové exprese; imprinting
dlouhé intronové nekódující RNA	v genomu umístěny uvnitř intronů; evolučně konzervované; tkáňová a subbuněčná specifická	aberantní exprese u nádorových onemocnění / možné zapojení do posttranskripčního umlčování genové exprese
nekódující RNA asociované s telomerami	100 bp až 9 kb; konzervovány napříč eukaryoty; syntetizovány z oblastí bohatých na konstitutivní heterochromatin; polyadenylovány	možný význam u onemocnění asociovaných s délkou telomer, včetně nádorových onemocnění / negativní regulátor kompenzační kapacity telomer
dlouhé nekódující RNA s dvojitou funkcí pseudogeny	regulační funkce nekódujících RNA; za určitých okolností schopnost kódovat proteiny kopie genů, které ztratily schopnost kódovat proteiny; vzniklé retrotranspozicí; tkáňově specifické	deregulovány u nádorů prsu a vaječníků / regulace genové exprese deregulovány v průběhu nádorové iniciace a následné progresu / regulace genové exprese skrze funkční umlčení mikroRNA
přepisované vysoce konzervované oblasti	delší než 200 bp; absolutně konzervované mezi ortologními oblastmi genomů člověka, krysy a myši; umístěny v inter- i intragenových oblastech	aberantní exprese u mnoha nádorových onemocnění / inhibice protein-kódujících genů a některých nekódujících RNA

než 1 % z nich bylo detailněji charakterizováno [6,21]. Nicméně bylo prokázáno, že lincRNA jsou zapojeny v biologických procesech, jako jsou např. imprinting nebo maligní transformace [11,20,21]. Z nedávných studií rovněž vyplývá, že tyto molekuly mění svůj expresní profil v průběhu fyziologického vývoje jedince, v odpovědi na různé druhy signalizací a vykazují významně odlišné expresní hladiny v primárních nádorech a metastázách ve srovnání s příslušnou nenádorovou tkání [6].

Jednou z prvních detailněji charakterizovaných lincRNA je HULC (Highly Upregulated in Liver Cancer). Tato lincRNA je kódována na lokusu 6p24.3 a nese znaky typické pro mRNA, včetně jednoho intronu ohraničeného sestřihovými místy GT-AG, polyadenylovaného konce a jaderného exportního signálu, díky čemuž je HULC silně lokalizována v cytoplasmě. Ačkoli byla HULC purifikována společně s ribozomy, dosud nebyl detekován žádný její translační produkt [22]. HULC je významně zvýšena u jaterních metastáz kolorektálního karcinomu a v buněčných liniích hepatocelulárního karcinomu [23]. Na základě současných pozorování se zdá, že HULC může vyvolávat jak různé transkripční faktory a signální proteiny, tak některé mikroRNA, čímž zabraňuje jejich vazbě na cílovou

molekulu, a reguluje tak její aktivitu a/nebo expresi. Mezi takto regulované mikroRNA patří také známá onkogenní miR-372, jež post-transkripčně reguluje PRKACB (protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, beta), která indukuje fosforylaci proteinu CREB (cAMP responsive element binding protein). Aktivovaný protein CREB je schopný udržovat otevřenou chromatinovou strukturu v oblasti promotoru pro HULC, což následně vede ke zvýšené transkripci HULC, a vytváří tak pozitivní zpětnovazebnou smyčku [24].

Další dobře popsána RNA patří do podskupiny lincRNA je HOTAIR (HOX antisense intergenic RNA). HOTAIR je 2.2 kb dlouhý gen lokalizovaný u člověka uvnitř genového klástru HOXC na dlouhém raménku chromozomu 2. Bylo zjištěno, že tato lincRNA může prostřednictvím navázaného PRC2 (polycomb repressive complex 2) a následně trimetylace lyzinu 27 histonu H3 (H3K27) regulovat geny HOXD [20]. Obecně 5' oblast na HOTAIR váže protein PRC2 (polycomb repressive complex 2), který je zodpovědný za metylaci H3K27, zatímco její 3' oblast váže LSDS1, histon-lyzínovou demetylázu zprostředkávající enzymatickou demetylaci H3K4Me2. HOTAIR se vyskytuje u savců, má málo

konzervované sekvence, avšak vysoce konzervovanou strukturu a vyvinula se pravděpodobně dříve než okolní HOXC geny [25]. HOTAIR byla jednou z prvních lincRNA, u nichž byla popsána asociace s metastazováním. Hladina její exprese byla v porovnání s odpovídající nenádorovou tkání významně zvýšená u primárních i metastatických nádorů prsu a vysoké hladiny exprese HOTAIR navíc korelují se špatnou prognózou [11]. V případě hepatocelulárního karcinomu je zvýšená exprese HOTAIR kandidátním biomarkerem pro predikci časné rekurence u pacientů, kteří podstoupili transplantaci jater [26].

Cílená regulace nádorově specifických krátkých nekódujících RNA, především mikroRNA, se ukazuje být správným směrem v rámci moderních terapeutických strategií. Z toho důvodu je velmi žádoucí, aby byly navrženy molekuly, jež budou schopny inhibovat také lincRNA. Gupta et al ve své práci ukládali, že tyto molekuly mohou být degradovány pomocí siRNA, avšak tento způsob je z důvodu četných sekundárních struktur lincRNA komplikovaný a neefektivní [11,25]. Nicméně je evidentní, že nádorově asociované lincRNA představují slibnou skupinu lincRNA s potenciálem pro onkologickou diagnostiku a moderní terapie.

Dlouhé intronové nekódující RNA

Ačkoli není doposud biogeneze intronových lncRNA dostatečně popsána, výsledky některých studií nepřímo ukazují, že by v tomto procesu mohla být zapojena RNAPII. Svědčí o tom zejména shodně koregulované expresní profily mnoha intronových lncRNA s příslušnými protein-kódujícími transkripty, významné zapojení transkripčních faktorů asociovaných s RNAPII a v neposlední řadě přítomnost polyA konce [27–31]. Avšak po ovlivnění alfa-amanitinem, specifickým RNAPII inhibítorem, došlo ke zvýšené transkripci u 10 % dlouhých intronových poly(A+) nekódujících RNA oproti pouze 4 % protein-kódujícím genům [27,30,32]. Tato skutečnost tedy naznačuje, že některé tyto intronové lncRNA společně s některými protein-kódujícími RNA jsou z DNA přepisovány pomocí RNAP III nebo spRNAP IV (single-polypeptide nuclear RNA polymerase IV), jejíž aktivita se zdá být zesilována účinky právě zmíněného alfa-amanitinu [27,32–36].

Studie zkoumající evoluční konzervovanost intronových lncRNA napříč různými obratlovci odhalily, že délka konzervovaných sekvencí se pohybuje pouze okolo 100 bp. Ovšem při porovnání více příbuzných druhů, jako je člověk, myš, kráva a pes, vzrostla tato délka až na 750 bp [37,38]. Mezdruhový výskyt, tkáňová a subbuněčná expresní specifita, evoluční konzervovanost, schopnost reagovat na změny vnějšího prostředí a aberantní exprese u lidských nádorových onemocnění svědčí o zapojení intronových lncRNA do regulace genové exprese. Složitost těchto regulačních vztahů pak dokazuje zejména různá exprese intronových lncRNA a k nim korespondujících protein-kódujících sekvencí. Zatímco v některých případech je možné pozorovat vzájemně shodné expresní hladiny, u jiných byla naopak prokázána inverzní korelace [27,30,39,40]. Některé krátké nekódující RNA, jako jsou mikroRNA, bývají kódovány uvnitř intronových oblastí, především pak 5'-orientovaných, přičemž většina intronových lncRNA je také součástí prvních intronů hostitelských genů. Z tohoto důvodu se předpokládá, že mnoho intronových lncRNA je zpracováváno do krátkých ne-

kódujících RNA [27,41,42]. Podobně jako u mezigenových lncRNA byla popsána HOTAIR, mezi intronovými byla identifikována COLDAIR (cold assisted intronic noncoding RNA) zprostředkávající při dlouhodobém působení nízkých teplot epigenetické umlčení genu FLC (*FLOWERING LOCUS C*) prostřednictvím již zmíněného proteinu PRC2 [43].

Velmi zajímavá studie ukázala, že intronové lncRNA jsou různě exprimovány v primárních a metastatických nádorech pankreatu. Navíc intronové lncRNA, které jsou odlišně exprimovány v metastázách ductálního adenokarcinomu pankreatu, se ve většině případů vyskytují uvnitř genů asociovaných s MAPK signální dráhou [44]. Tato pozorování tedy poukazují na potenciální význam této třídy nekódujících transkriptů v biologických procesech spojených s maligní transformací a metastazováním.

Nekódující RNA asociované s telomerami

Telomery chrání konce lineárních chromozomů před reparačním mechanismem, který by je jinak rozpoznal a zpracoval jako dvouřetězcové zlomy na DNA. Tato ochranná funkce telomer je tedy nezbytná pro stabilitu chromozomů a až do nedávné doby panovala domněnka, že telomery jsou transkripčně neaktivní [45]. Nedávno ovšem několik výzkumných skupin nezávisle na sobě demonstrovalo, že silně metylované subtelomerické a telomerické oblasti, ačkoli postrádají protein-kódující geny, vykazují transkripční aktivitu a přepisují se do telomerových UUAGGG-repetic, čímž vzniká nekódující RNA (TERRA) [46–48]. Molekuly TERRA jsou sekvencně konzervovány napříč eukaryoty, a byly tedy identifikovány i u člověka. Tyto transkripty jsou často syntetizovány z oblastí bohatých na konstitutivní heterochromatin, jsou polyadenylovány a jejich syntéza je senzitivní k působení alfa-amanitinu, což naznačuje, že jsou přepisovány RNAPII [45,49].

Délka TERRA se pohybuje v rozmezí od 100 bp až po více než 9 kb, jsou exprimovány v různých fázích buněčného cyklu a bylo zjištěno, že jejich exprese ovlivňuje několik faktorů, mezi něž patří délka telomer, buněčný stres, stu-

peň buněčné diferenciace, struktura telomerického heterochromatinu, ale také například stadium nádorového onemocnění [45,48]. Bylo zjištěno, že poškození některých klíčových buněčných procesů, jako je např. dráha zajišťující odbourávání aberantních transkriptů u člověka nebo ztráta 5'-3' exonukleázy Rat1p u *Saccharomyces cerevisiae*, je asociováno s významně zvýšenými hladinami TERRA. Vysoké hladiny TERRA pak korelují se ztrátou kompenzační kapacity telomer [46,48,49]. Je tedy velmi pravděpodobné, že TERRA jsou důležitými regulátory telomerázové aktivity [45,47,49]. Sampl et al zjistili, že expresní hladiny TERRA negativně korelují s malignitou gliomů [50]. Tyto výsledky navíc korespondují s pozorováním u nádorů hrtanu, tlustého střeva a lymfatických uzlin [47]. Molekuly TERRA se proto zdají být zajímavým směrem nejen ve výzkumu telomer, ale také nádorových onemocnění, u kterých je porucha na úrovni telomerických sekvencí velice častá [51].

Dlouhé nekódující RNA s dvojitou funkcí

Ještě do nedávné doby byly nekódující RNA striktně považovány za molekuly s regulačními funkcemi a nebyla jim přisuzována žádná protein-kódující kapacita typická pro mRNA. Ovšem nedávne studie identifikovaly a charakterizovaly bifunkční RNA transkripty vykazující jak funkci regulační, tak schopnost kódovat proteiny. Tato pozorování naznačují, že jednoznačná kategorizace některých molekul RNA nebude možná [52]. Mezi molekuly tohoto typu patří např. SRA (steroid receptor RNA activator), který vykazuje vlastnosti a funkce nekódující RNA, avšak začlenění specifické oblasti na jeho 5' konec vede k translaci a vzniku proteinu SRA (SRAP) [53–55]. SRA je známý RNA-koaktivátor mnoha jaderných receptorů, a je tedy schopný regulovat genovou expresi. Stejnou funkci plní i ve formě proteinu [52,53,56]. SRA byl identifikován v mnoha lidských tkáních. Jeho zvýšená exprese pak byla pozorována v játrech, kosterní svalovině, nadledvinkách a hypofýze. Nižší exprese naopak vykazovaly placenta, plíce, ledviny a slinivka [53]. Vysoká exprese SRA

byla rovněž popsána u nádorů vaječníků a prsu [57–59]. Navíc serózní karcinomy vaječniku vykazují vyšší hladinu SRA než jejich granulózní formy. SRA tak nejenže představuje potenciální diagnostický biomarker, ale především je zcela novým fenoménem v oblasti biologie RNA, kdy jediný RNA transkript může vést jak ke vzniku funkčního proteinového produktu, tak setrvat na úrovni RNA a realizovat regulační funkce jako nekódující RNA [52,57].

Pseudogeny

Pseudogeny jsou kopiemi genů, které ztratily schopnost kódovat protein. Typicky to bývají poškozené nebo nekompletní protein-kódující sekvence, dlouho označované jako „junk“ DNA, tedy jako nepotřebná DNA vznikající během evoluce genomu [60,61]. Pseu-

dogeny vznikají retrotranspozicí mRNA, většinou potom jako vedlejší produkty LINE-1 (long interspersed nuclear elements) retrotranspozice. Jsou tedy zpětně přepisovány a reintegrované do genomické DNA. Proto původní „rodičovská“ sekvence nemusí být nutně na stejném chromozomu jako její retrotranspozonová kopie [62,63]. Takto reintegrovaná DNA může mít v zásadě tři funkce; jednak může být zcela neporušena, a zachovat si tak schopnost kódovat proteiny, a nebo může dojít k jejímu porušení a vzniku pseudogenu, který se v závislosti na míře poškození a umístění může i nemusí přepisovat do RNA [60]. Nedávná velmi zajímavá pozorování ukázala, že transkribované pseudogeny pravděpodobně mohou regulovat expresi jejich vývojově příbuzných protein-kódujících sekvencí [60,61]. Za-

jímavé rovněž je, že některé z těchto molekul vykazují tkáňově specifickou expresi.

Bylo zjištěno, že pseudogeny přepsané do lncRNA mohou být dále procesovány do krátkých RNA, které jsou schopny posttranskripčně regulovat genovou expresi prostřednictvím RNA interference. Kromě toho bylo zjištěno, že miR-220 a miR-492, mikroRNA specifické pro primáty, leží obě uvnitř pseudogenů [64]. Jiný a zcela odlišný mechanismus regulace genové exprese pak spočívá v působení přepsaných pseudogenů jako „vychytávačů“ mikroRNA, které po navázání na tyto lncRNA nemohou dále regulovat své cílové sekvence [61,63].

Několik studií popisuje deregulaci exprese pseudogenů v průběhu nádorové progresi, což naznačuje možné funkční zapojení těchto molekul do procesu kan-

Tab. 2. lncRNA deregulované u nádorových onemocnění. Upraveno podle [112].

LncRNA	Velikost	Lokalizace	Nádorové onemocnění	Reference
HOTAIR	2 158 nt	12q13.13	karcinom prsu	[11,20]
MALAT1/α/NEAT2	7.5 kb	11q13.1	karcinom prsu, plic, dělohy, slinivky, kolorektální karcinom, karcinom prostaty, hepatocelulární karcinom, osteosarkom, neuroblastom, karcinom děložního hrdla	[76–81]
HULC	500 nt	6p24.3	hepatocelulární karcinom	[82,83]
BC200	200 nt	2p21	karcinom prsu, děložního hrdla, jícnu, plic, vaječníků, příušní žlázy, jazyka	[13,84]
H19	2.3 kb	11p15.5	karcinom močového měchýře, plic, hepatocelulární karcinom, karcinom prsu, endometria, děložního hrdla, jícnu, vaječníků, prostaty, kolorektální karcinom	[22–24,85]
BIC/MIRHG155/MIRHG2	1.6 kb	21q11.2	B-buněčný lymfom	[86]
PRNCR1	13 kb	8q24.2	karcinom prostaty	[87]
LOC285194	2 105 nt	3q13.31	osteosarkom	[88]
PCGEM1	1 643 nt	2g32.2	karcinom prostaty	[89–91]
UCA1/CUDR	1.4–2.7 kb	19p13.12	karcinom močového měchýře, kolorektální karcinom, karcinom děložního hrdla, plic, štítné žlázy, hepatocelulární karcinom, karcinom prsu, jícnu, žaludku	[92–93]
DD3/PCA3	0.6–4 kb	9q21.22	karcinom prostaty	[94,95]
anti-NOS2A	1.9 kb	17q23.2	nádory CNS	[96]
uc.73A	201 nt	2q22.3	kolorektální karcinom	[70]
uc.338	590 nt	12q13.13	hepatocelulární karcinom	[97]
ANRIL/p15AS/CDK2BAS	34.8 kb	9p21.3	karcinom prostaty, leukemie	[98–101]
MEG3	1.6 kb	14q32.2	nádory CNS	[102–104]
GAS5/SNHG2	isoforms	1q25.1	karcinom prsu	[105]
SRA-1/SRA	1 965 nt	5q31.3	karcinom prsu, dělohy, vaječníků	[71,106]
PTENP1	3.9 kb	9p13.3	karcinom prostaty	[107,108]
ncRAN	2 186 nt 2 087 nt	17q25.1	karcinom močového měchýře, neuroblastom	[109,110]
LSINCT5	2.6 kb	5p15.33	karcinom prsu, vaječníků	[111]

cerogeneze a představuje je jako nové potenciální diagnostické nádorové biomarkery a terapeutické cíle. Jedním z takových pseudogenů je MYLK1 (myosin light chain kinase pseudogen), který je částečně duplikován z původního genu *MYLK* (myosin light chain kinase). Funkční gen *MYLK* kóduje dvě izoformy, nmMLCK (nonmuscle myosin light chain kinase) a smMLCK (smooth muscle myosin light chain kinase) a reguluje buněčné kontrakce a cytokinezi. Navzdory významné homologii obou promotorů (~ 90 %) vykazuje promotor pro MYLK1 ve zdravých bronchiálních epiteliálních buňkách oproti promotoru pro smMLCK minimální aktivitu. V buňkách adenokarcinomu plic však byl pozorován opačný jev, kdy promotor pro MYLK1 vykazoval mnohonásobně vyšší aktivitu. Stejný trend byl pozorován rovněž ve tkáni kolorektálního karcinomu v porovnání s nenádorovou tkání tlustého střeva. Z funkčního hlediska se tedy zdá, že MYLK1 inhibuje expresi smMLCK, což vede ke zvýšené buněčné proliferaci [65]. Kromě MYLK1 byl u karcinomu prostaty popsán KLK31P, další pseudogen hrající pravděpodobně roli v kancerogenezi, avšak jeho detailnější charakterizace ještě nebyla provedena [66].

Tyto nálezy nejenže staví pseudogeny do role slibných diagnostických biomarkerů, ale především pseudogenům, které byly mnoho let považovány za pouhé evoluční relikty, přiřazují biologickou funkci.

Přepisované vysoce konzervované oblasti

V současné době je popsáno 481 sekvencí delších než 200 bp, které jsou vysoce konzervované mezi ortologními oblastmi lidského, krysího a myšího genomu. Tyto vysoce konzervované oblasti (ultraconserved regions – UCR) jsou lokalizovány jak v intra-, tak i v intergenových regionech. U člověka jsou pak některé z těchto UCR přepisovány do RNA (transcribed-ultraconserved regions – T-UCR) [67].

Z funkčního hlediska působí UCR jako zesilovače genové transkripce [68], zatímco T-UCR se na základě dosavadních poznatků jeví spíše jako inhibitory protein-kódujících genů, ale i některých ne-

kódujících RNA, včetně mikroRNA. Vztah mezi T-UCR a mikroRNA ovšem není jednostranný a některé mikroRNA mohou pravděpodobně zpětně regulovat T-UCR. Tento předpoklad vyplývá především ze zjištění, že mnoho T-UCR obsahuje sekvence komplementární s některými mikroRNA. Mezi těmito navzájem komplementárními molekulami byla opakovaně pozorována negativní korelace jejich exprese [69,70].

Nedávné studie naznačily, že exprese T-UCR je u vybraných nádorových onemocnění, například chronické lymfatické leukémie, kolorektálního a hepatocelulárního karcinomu a neuroblastomu deregulována a koreluje s klinickopatologickými charakteristikami pacientů [70–72]. Navíc v případě neuroblastomu bylo zjištěno zapojení těchto molekul do procesů buněčné apoptózy a diferenciaci [73]. U mnoha nádorových onemocnění je velmi častým jevem hypermetylace CpG ostrůvků v T-UCR genech, čímž dochází k jejich epigenetické inaktivaci. Tato skutečnost tedy podporuje obecný předpoklad, že jak genetické, tak i epigenetické změny u protein-kódujících, ale i nekódujících DNA sekvencí přispívají k maligní transformaci [69]. Význam UCR v kancerogenezi naznačil i vztah jednonukleotidových polymorfizmů (SNP) rs9572903 a rs2056116 nacházejících se v UCR oblastech se zvýšeným rizikem familiárního karcinomu prsu [74,75].

Závěr

Majoritní část transkriptomu tvoří nekódující RNA, které jsou významnými regulátory genové exprese. Významnou podskupinou těchto RNA jsou lncRNA o délce od 200 nt až po více než 100 kb. LncRNA jsou zapojeny do mnoha buněčných procesů, včetně alternativního sestřihu, modulace proteinové aktivity, změny proteinové lokalizace a především transkripční i post-transkripční regulace genové exprese. Díky těmto vlastnostem jsou lncRNA významnými molekulami v rámci buněčné biologie, nepostradatelné při udržování fyziologického stavu buňky. Alterace jejich hladin mohou mít zásadní důsledky a významně přispívají k procesu maligní transformace u mnoha nádorových onemocnění (tab. 2). Ln-

cRNA tak představují slibné diagnostické, prognostické a prediktivní biomarkery a také potenciální terapeutické cíle. Přestože v posledních letech bylo dosaženo významného pokroku v oblasti studia lncRNA, funkce a přesné mechanismy, kterými se lncRNA zapojují do kancerogeneze jednotlivých nádorových onemocnění, nejsou stále uspokojivě objasněny.

Literatura

- Stein LD. Human genome: end of the beginning. *Nature* 2004; 431(7011): 915–916.
- Taft RJ, Pang KC, Mercer TR et al. Non-coding RNAs: regulators of disease. *J Pathol* 2010; 220(2): 126–139.
- Mattick JS. Non-coding RNAs: the architects of eukaryotic complexity. *EMBO Rep* 2001; 2: 986–991.
- Zhang R, Zhang L, Yu W. Genome-wide expression of non-coding RNA and global chromatin modification. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2012; 44(1): 40–47.
- Pagano A, Castelnuovo M, Tortelli F et al. New small nuclear RNA gene-like transcriptional units as sources of regulatory transcripts. *PLoS Genet* 2007; 3(2): e1.
- Guttman M, Amit I, Garber M et al. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature* 2009; 458(7235): 223–237.
- Costa FF. Non-coding RNAs: Meet thy masters. *Bioessays* 2010; 32(7): 599–608.
- Chen Y, Song Y, Wang Z et al. Altered expression of MiR-148a and MiR-152 in gastrointestinal cancers and its clinical significance. *J Gastrointest Surg* 2010; 14(7): 1170–1179.
- Lipovich L, Johnson R, Lin CY. MacroRNA underdogs in a mikroRNA world: evolutionary, regulatory, and biomedical significance of mammalian long non-protein-coding RNA. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1799(9): 597–615.
- Tripathi V, Ellis JD, Shen Z et al. The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol Cell* 2010; 39(6): 925–938.
- Gupta RA, Shah N, Wang KC et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464(7291): 1071–1076.
- Orom UA, Derrien T, Beringer M et al. Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell* 2010; 143(1): 46–58.
- Iacoangeli A, Lin Y, Morley EJ et al. BC200 RNA in invasive and preinvasive breast cancer. *Carcinogenesis* 2004; 25(11): 2125–2133.
- Mattick JS, Amaral PP, Dinger ME et al. RNA regulation of epigenetic processes. *Bioessays* 2009; 31(1): 51–59.
- Ishii N, Ozaki K, Sato H et al. Identification of a novel non-coding RNA, MIAT, that confers risk of myocardial infarction. *J Hum Genet* 2006; 51(12): 1087–1099.
- Faghghi MA, Modarresi F, Khalil AM et al. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of beta-secretase. *Nat Med* 2008; 14(7): 723–730.
- Sana J, Faltejškova P, Svoboda M et al. Novel classes of non-coding RNAs and cancer. *J Transl Med* 2012; 10(1): 103.
- Costa FF. Non-coding RNAs: new players in eukaryotic biology. *Gene* 2005; 357(2): 83–94.
- Okamura K, Chung WJ, Ruby JG et al. The Drosophila hairpin RNA pathway generates endogenous short interfering RNAs. *Nature* 2008; 453(7196): 803–806.

20. Rinn JL, Kertesz M, Wang JK et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell* 2007; 129(7): 1311–1323.
21. Khalil AM, Guttman M, Huarte M et al. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(28): 11667–11672.
22. Brannan CI, Dees EC, Ingram RS et al. The product of the H19 gene may function as an RNA. *Mol Cell Biol* 1990; 10(1): 28–36.
23. Gabory A, Jammes H, Dandolo L. The H19 locus: role of an imprinted non-coding RNA in growth and development. *Bioessays* 2010; 32(6): 473–480.
24. Hibi K, Nakamura H, Hirai A et al. Loss of H19 imprinting in esophageal cancer. *Cancer Res* 1996; 56(3): 480–482.
25. Tsai MC, Manor O, Wan Y et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010; 329(5992): 689–693.
26. Yang Z, Zhou L, Wu LM et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2011; 18(5): 1243–1250.
27. Louro R, Smirnova AS, Verjovski-Almeida S. Long intronic noncoding RNA transcription: expression noise or expression choice? *Genomics* 2009; 93(4): 291–298.
28. Louro R, Nakaya HI, Amaral PP et al. Androgen responsive intronic non-coding RNAs. *BMC Biol* 2007; 5: 4.
29. Cawley S, Bekiranov S, Ng HH et al. Unbiased mapping of transcription factor binding sites along human chromosomes 21 and 22 points to widespread regulation of noncoding RNAs. *Cell* 2004; 116(4): 499–509.
30. Nakaya HI, Amaral PP, Louro R et al. Genome mapping and expression analyses of human intronic noncoding RNAs reveal tissue-specific patterns and enrichment in genes related to regulation of transcription. *Genome Biol* 2007; 8(3): R43.
31. Dinger ME, Amaral PP, Mercer TR et al. Long noncoding RNAs in mouse embryonic stem cell pluripotency and differentiation. *Genome Res* 2008; 18(9): 1433–1445.
32. Kravchenko JE, Rogozin IB, Koonin EV et al. Transcription of mammalian messenger RNAs by a nuclear RNA polymerase of mitochondrial origin. *Nature* 2005; 436(7051): 735–739.
33. Li SC, Tang P, Lin WC. Intronic mikroRNA: discovery and biological implications. *DNA Cell Biol* 2007; 26(4): 195–207.
34. Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human mikroRNAs. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13(12): 1097–1101.
35. Massone S, Vassallo I, Castelnovo M et al. RNA polymerase III drives alternative splicing of the potassium channel-interacting protein contributing to brain complexity and neurodegeneration. *J Cell Biol* 2011; 193(5): 851–866.
36. Massone S, Vassallo I, Fiorino G et al. 17A, a novel noncoding RNA, regulates GABA B alternative splicing and signaling in response to inflammatory stimuli and in Alzheimer disease. *Neurobiol Dis* 2011; 41(2): 308–317.
37. Louro R, El-Jundi T, Nakaya HI et al. Conserved tissue expression signatures of intronic noncoding RNAs transcribed from human and mouse loci. *Genomics* 2008; 92(1): 18–25.
38. Rearick D, Prakash A, McSweeney A et al. Critical association of ncRNA with introns. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(6): 2357–2366.
39. Mercer TR, Dinger ME, Sunkin SM et al. Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(2): 716–721.
40. Katayama S, Tomaru Y, Kasukawa T et al. Antisense transcription in the mammalian transcriptome. *Science* 2005; 309(5740): 1564–1566.
41. Filipowicz W, Pogacic V. Biogenesis of small nuclear ribonucleoproteins. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14(3): 319–327.
42. Hirose T, Ideue T, Nagai M et al. A spliceosomal intron binding protein, IBP160, links position-dependent assembly of intron-encoded box C/D snoRNP to pre-mRNA splicing. *Mol Cell* 2006; 23(5): 673–684.
43. Heo JB, Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science* 2011; 331(6013): 76–79.
44. Tahira AC, Kubrusly MS, Faria MF et al. Long noncoding intronic RNAs are differentially expressed in primary and metastatic pancreatic cancer. *Mol Cancer* 2011; 10: 141.
45. Isken O, Maquat LE. Telomeric RNAs as a novel player in telomeric integrity. *F1000 Biol Rep* 2009; 1: 90.
46. Azzalin CM, Reichenbach P, Khoraiuli L et al. Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends. *Science* 2007; 318(5851): 798–801.
47. Schoeftner S, Blasco MA. Developmentally regulated transcription of mammalian telomeres by DNA-dependent RNA polymerase II. *Nat Cell Biol* 2008; 10(2): 228–236.
48. Schoeftner S, Blasco MA. A 'higher order' of telomere regulation: telomere heterochromatin and telomeric RNAs. *EMBO J* 2009; 28(16): 2323–2336.
49. Luke B, Panza A, Redon S et al. The Rat1p 5' to 3' exonuclease degrades telomeric repeat-containing RNA and promotes telomere elongation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell* 2008; 32(4): 465–477.
50. Sampl S, Pramhas S, Stern C et al. Expression of Telomeres in Astrocytoma WHO Grade 2 to 4: TERRA Level Correlates with Telomere Length, Telomerase Activity, and Advanced Clinical Grade. *Transl Oncol* 2012; 5(1): 56–65.
51. Schoeftner S, Blasco MA. Chromatin regulation and non-coding RNAs at mammalian telomeres. *Semin Cell Dev Biol* 2010; 21(2): 186–193.
52. Ulveling D, Francastel C, Hube F. When one is better than two: RNA with dual functions. *Biochimie* 2011; 93(4): 633–644.
53. Lanz RB, McKenna NJ, Onate SA et al. A steroid receptor coactivator, SRA, functions as an RNA and is present in an SRC-1 complex. *Cell* 1999; 97(1): 17–27.
54. Kawashima H, Takano H, Sugita S et al. A novel steroid receptor co-activator protein (SRAP) as an alternative form of steroid receptor RNA-activator gene: expression in prostate cancer cells and enhancement of androgen receptor activity. *Biochem J* 2003; 369(Pt 1): 163–171.
55. Chooniedass-Kothari S, Emberley E, Hamedani MK, et al. The steroid receptor RNA activator is the first functional RNA encoding a protein. *FEBS Lett* 2004; 566(1–3): 43–47.
56. Xu K, Liang X, Cui D et al. miR-1915 inhibits Bcl-2 to modulate multidrug resistance by increasing drug-sensitivity in human colorectal carcinoma cells. *Mol Carcinog* 2011. [Epub ahead of print].
57. Hussein-Fikret S, Fuller PJ. Expression of nuclear receptor coregulators in ovarian stromal and epithelial tumours. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 229(1–2): 149–160.
58. Lanz RB, Chua SS, Barron N et al. Steroid receptor RNA activator stimulates proliferation as well as apoptosis in vivo. *Mol Cell Biol* 2003; 23(20): 7163–7176.
59. Leygue E, Dotzlaw H, Watson PH et al. Expression of the steroid receptor RNA activator in human breast tumors. *Cancer Res* 1999; 59(17): 4190–4193.
60. Harrison PM, Zheng D, Zhang Z et al. Transcribed processed pseudogenes in the human genome: an intermediate form of expressed retrosequence lacking protein-coding ability. *Nucleic Acids Res* 2005; 33(8): 2374–2383.
61. Pink RC, Wicks K, Caley DP et al. Pseudogenes: pseudofunctional or key regulators in health and disease? *RNA* 2011; 17(5): 792–798.
62. Esnault C, Maestre J, Heidmann T. Human LINE retrotransposons generate processed pseudogenes. *Nat Genet* 2000; 24(4): 363–367.
63. Terai G, Yoshizawa A, Okida H et al. Discovery of short pseudogenes derived from messenger RNAs. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(4): 1163–1171.
64. Devor EJ. Primate mikroRNAs miR-220 and miR-492 lie within processed pseudogenes. *J Hered* 2006; 97(2): 186–190.
65. Han YJ, Ma SF, Yourek G et al. A transcribed pseudogene of MYLK promotes cell proliferation. *FASEB J* 2011; 25(7): 2305–2312.
66. Lu W, Zhou D, Glusman G et al. KLK31P is a novel androgen regulated and transcribed pseudogene of kallikreins that is expressed at lower levels in prostate cancer cells than in normal prostate cells. *Prostate* 2006; 66(9): 936–944.
67. Bejerano G, Pheasant M, Makunin I et al. Ultraconserved elements in the human genome. *Science* 2004; 304(5675): 1321–1325.
68. Nobrega MA, Ovcharenko I, Afzal V et al. Scanning human gene deserts for long-range enhancers. *Science* 2003; 302(5644): 413.
69. Lujambio A, Portela A, Liz J et al. CpG island hypermethylation-associated silencing of non-coding RNAs transcribed from ultraconserved regions in human cancer. *Oncogene* 2010; 29(48): 6390–63401.
70. Calin GA, Liu CG, Ferracin M et al. Ultraconserved regions encoding ncRNAs are altered in human leukemias and carcinomas. *Cancer Cell* 2007; 12(3): 215–229.
71. 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.
72. Sana J, Hankeova S, Svoboda M et al. Expression levels of transcribed ultraconserved regions uc.73 and uc.388 are altered in colorectal cancer. *Oncology* 2012; 82(2): 114–118.
73. Mestdagh P, Fredlund E, Pattyn F et al. An integrative genomics screen uncovers ncRNA T-UCR functions in neuroblastoma tumours. *Oncogene* 2010; 29(24): 3583–3592.
74. Catucci I, Verderio P, Pizzamiglio S et al. SNPs in ultraconserved elements and familial breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2009; 30(3): 544–545; author reply 6.
75. Yang R, Frank B, Hemminki K et al. SNPs in ultraconserved elements and familial breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2008; 29(2): 351–355.
76. Ji P, Diederichs S, Wang W et al. MALAT-1, a novel non-coding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2003; 22(39): 8031–8041.
77. Lin R, Maeda S, Liu C et al. A large noncoding RNA is a marker for murine hepatocellular carcinomas and a spectrum of human carcinomas. *Oncogene* 2007; 26(6): 851–858.
78. Davis IJ, Hsi BL, Arroyo JD et al. Cloning of an Alpha-TFEB fusion in renal tumors harboring the t(6;11)(p21;q13) chromosome translocation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(10): 6051–6056.
79. Guo F, Li Y, Liu Y et al. Inhibition of metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in CaSki human cervical cancer cells suppresses cell proliferation and invasion. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2010; 42(3): 224–229.
80. Fellenberg J, Bernd L, Delling G et al. Prognostic significance of drug-regulated genes in high-grade osteosarcoma. *Mod Pathol* 2007; 20(10): 1085–1094.
81. Koshimizu TA, Fujiwara Y, Sakai N et al. Oxytocin stimulates expression of a noncoding RNA tumor marker in a human neuroblastoma cell line. *Life Sci* 2010; 86(11–12): 455–460.
82. Panzitt K, Tschernatsch MM, Guelly C et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA. *Gastroenterology* 2007; 132(1): 330–342.
83. Matouk IJ, Abbasi I, Hochberg A et al. Highly upregulated in liver cancer noncoding RNA is overexpressed in

- hepatic colorectal metastasis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21(6): 688–692.
84. Chen W, Bocker W, Brosius J et al. Expression of neural BC200 RNA in human tumours. *J Pathol* 1997; 183(3): 345–351.
85. Berteaux N, Lottin S, Adriaenssens E et al. Hormonal regulation of H19 gene expression in prostate epithelial cells. *J Endocrinol* 2004; 183(1): 69–78.
86. Eis PS, Tam W, Sun L et al. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(10): 3627–3632.
87. Chung S, Nakagawa H, Uemura M et al. Association of a novel long non-coding RNA in 8q24 with prostate cancer susceptibility. *Cancer Sci* 2011; 102(1): 245–252.
88. Pasic I, Shlien A, Durbin AD et al. Recurrent focal copy-number changes and loss of heterozygosity implicate two noncoding RNAs and one tumor suppressor gene at chromosome 3q13.31 in osteosarcoma. *Cancer Res* 2010; 70(1): 160–171.
89. Petrovics G, Zhang W, Makarem M et al. Elevated expression of PCGEM1, a prostate-specific gene with cell growth-promoting function, is associated with high-risk prostate cancer patients. *Oncogene* 2004; 23(2): 605–611.
90. Srikantan V, Zou Z, Petrovics G et al. PCGEM1, a prostate-specific gene, is overexpressed in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(22): 12216–12221.
91. Fu X, Ravindranath L, Tran N et al. Regulation of apoptosis by a prostate-specific and prostate cancer-associated noncoding gene, PCGEM1. *DNA Cell Biol* 2006; 25(3): 135–141.
92. Wang XS, Zhang Z, Wang HC et al. Rapid identification of UCA1 as a very sensitive and specific unique marker for human bladder carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12(16): 4851–4858.
93. Wang F, Li X, Xie X et al. UCA1, a non-protein-coding RNA up-regulated in bladder carcinoma and embryo, influencing cell growth and promoting invasion. *FEBS Lett* 2008; 582(13): 1919–1927.
94. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW et al. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999; 59(23): 5975–5979.
95. de Kok JB, Verhaegh GW, Roelofs RW et al. DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors. *Cancer Res* 2002; 62(9): 2695–2698.
96. Korneev SA, Korneeva EI, Lagarkova MA et al. Novel noncoding antisense RNA transcribed from human anti-NOS2A locus is differentially regulated during neuronal differentiation of embryonic stem cells. *RNA* 2008; 14(10): 2030–2037.
97. Braconi C, Valeri N, Kogure T et al. Expression and functional role of a transcribed noncoding RNA with an ultra-conserved element in hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(2): 786–791.
98. Yu W, Gius D, Onyango P et al. Epigenetic silencing of tumour suppressor gene p15 by its antisense RNA. *Nature* 2008; 451(7175): 202–206.
99. Folkersen L, Kyriakou T, Goel A et al. Relationship between CAD risk genotype in the chromosome 9p21 locus and gene expression. Identification of eight new ANRIL splice variants. *PLoS One* 2009; 4(11): e7677.
100. Yap KL, Li S, Munoz-Cabello AM et al. Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol Cell* 2010; 38(5): 662–674.
101. Pasmant E, Laurendeau I, Heron D et al. Characterization of a germ-line deletion, including the entire INK4/ARF locus, in a melanoma-neural system tumor family: identification of ANRIL, an antisense noncoding RNA whose expression coclusters with ARF. *Cancer Res* 2007; 67(8): 3963–3969.
102. Miyoshi N, Wagatsuma H, Wakana S et al. Identification of an imprinted gene, Meg3/Gtl2 and its human homologue MEG3, first mapped on mouse distal chromosome 12 and human chromosome 14q. *Genes Cells* 2000; 5(3): 211–220.
103. Zhang X, Zhou Y, Mehta KR et al. A pituitary-derived MEG3 isoform functions as a growth suppressor in tumor cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(11): 5119–5126.
104. Zhang X, Rice K, Wang Y et al. Maternally expressed gene 3 (MEG3) noncoding ribonucleic acid: isoform structure, expression, and functions. *Endocrinology* 2010; 151(3): 939–947.
105. Mourtada-Maarabouni M, Pickard MR, Hedge VL et al. GAS5, a non-protein-coding RNA, controls apoptosis and is downregulated in breast cancer. *Oncogene* 2009; 28(2): 195–208.
106. Chooniedass-Kothari S, Hamedani MK, Troup S et al. The steroid receptor RNA activator protein is expressed in breast tumor tissues. *Int J Cancer* 2006; 118(4): 1054–1059.
107. Poliseño L, Salmena L, Zhang J et al. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature* 2010; 465(7301): 1033–1038.
108. Alimonti A, Carracedo A, Clohessy JG et al. Subtle variations in Pten dose determine cancer susceptibility. *Nat Genet* 2010; 42(5): 454–458.
109. Zhu Y, Yu M, Li Z et al. ncRAN, a newly identified long noncoding RNA, enhances human bladder tumor growth, invasion, and survival. *Urology* 2011; 77(2): 510e1–510e5.
110. Yu M, Ohira M, Li Y et al. High expression of ncRAN, a novel non-coding RNA mapped to chromosome 17q25.1, is associated with poor prognosis in neuroblastoma. *Int J Oncol* 2009; 34(4): 931–938.
111. Silva JM, Boczek NJ, Berres MW et al. LSINCT5 is over expressed in breast and ovarian cancer and affects cellular proliferation. *RNA Biol* 2011; 8(3): 496–505.
112. Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer* 2011; 10: 38.