

ДЛИННЫЕ НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК В ОПУХОЛЯХ ЧЕЛОВЕКА (НА ПРИМЕРЕ PANDAR)

© 2019 г. С. А. Кошкин¹, Л. С. Адонин¹, М. А. Иванова¹, Е. Н. Толкунова¹, *

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

*E-mail: entolk62@mail.ru

Поступила в редакцию 04.06.2019 г.

После доработки 25.06.2019 г.

Принята к публикации 26.06.2019 г.

Длинные некодирующие РНК (lncRNAs) представляют собой нуклеотидные последовательности длиной свыше 200 нуклеотидов и играют важную роль в различных процессах, включая пролиферацию и дифференцировку клеток. Многочисленные исследования показали, что длинная некодирующая РНК PANDAR играет онкогенную роль в солидных опухолях человека. Хотя аномальная экспрессия PANDAR детально изучена в ряде солидных опухолей человека, она практически не исследована в глиобластоме. В настоящем обзоре мы обобщаем современные данные о биологических функциях и механизмах, обеспечивающих вовлеченность PANDAR в процессы развития опухоли.

Ключевые слова: длинные некодирующие РНК, диагностические и предиктивные маркеры рака, стволовые клетки глиобластомы

DOI: 10.1134/S004137711908008X

Несмотря на прогресс, достигнутый в лечении онкологических заболеваний благодаря хирургическим и лучевым методам, а также химио- и таргетной терапии, прогноз течения рака, особенно прогрессирующего, остается плохим (Van Cutsem et al., 2016; Zugazagoitia et al., 2016). Различные биологические проявления злокачественности, а также сложные механизмы развития опухолей – основные причины, из-за которых диагностика опухоли и последующее ее лечение затруднены (Heaney, 2011; Watters et al., 2013). Поэтому важным и неотложным является поиск новых потенциальных терапевтических мишеней и характерных биомаркеров для ранней диагностики и прогнозирования течения онкологического процесса. Среди таких маркеров – длинные некодирующие белок РНК (lncRNAs), длина которых превышает 200 нуклеотидов. За редким исключением молекулы этого класса не имеют очевидной рамки считывания (Chen et al., 2017; Li P. et al., 2015; Ma Y. et al., 2016; Ruan et al., 2016).

Продemonстрировано, что lncRNAs играют жизненно важную роль в патофизиологии заболеваний

человека. Они являются либо онкогенами, либо генами-супрессорами опухолей и нарушение их экспрессии связано с различными клеточными процессами, такими как пролиферация, дедифференцировка, миграция, инвазия и апоптоз (Li J. et al., 2017). Молекулярные механизмы функционирования lncRNAs в опухолегенезе и прогрессировании раковых заболеваний сложны и разнообразны. Так, они могут играть роль “приманки” (decoys to interact) для взаимодействия с транскрипционными факторами, служить “точкой сбора” (скафолдом) для различных белковых комплексов или конкурировать с микроРНК (miRNAs), выступая в качестве конкурирующей эндогенной РНК (ceRNA) (Wang et al., 2011; Pickard, Williams, 2016; Sun et al., 2016; Yang et al., 2016). Однако детали регуляторного механизма функционирования большинства lncRNAs пока остаются непонятными и в большинстве случаев для его понимания требуются систематические исследования.

Важно отметить, что благодаря высокой тканеспецифичности, эффективности действия и повышенной стабильности молекул, lncRNAs имеют огромный потенциал как индикаторы (маркеры) для выявления рака (Ling et al., 2015; Zhang et al., 2016). Благодаря развитию технологий секвенирования генома с момента аннотации генома мыши (проект FANTOM) (Kawai et al., 2001) и генома человека (Dunham et al., 2012; Harrow et al., 2012), установлены роли длинных некодирующих РНК в координации специфических сигнальных путей с использованием

Принятые сокращения: ГКК – гепатоклеточная карцинома, МФГ – мультиформная глиобластома, ОСК – опухолевые стволовые клетки, lncRNAs – длинные некодирующие РНК (long non-coding RNA), miR – микроРНК, Oct-4 – транскрипционный фактор, кодируемый геном *Pou5f1*; PANDAR (promoter of CDKN1A antisense DNA damage activated RNA) – антисмысловая РНК на промоторе гена *CDKN1A*, активируемая повреждением ДНК.

самых разных модельных систем. Их стали признавать ключевыми регуляторами поддержания стволовых клеток и (или) их дифференцировки в различных направлениях.

Функциональная значимость lncRNAs, ранее считавшихся побочными продуктами (“шумом”) транскрипции, больше не является спорной темой. Список описанных lncRNAs постоянно растет и нужно отметить, что с увеличением сложности живых организмов доля некодирующей части генома значительно увеличивается (Huttenhofer et al., 2005). Можно приписать эту особенность сопутствующему увеличению размера генома и возрастанию “доли мусорных последовательностей”. Однако накапливается все больше доказательств того, что эти некодирующие транскрипты играют незаменимую роль в контексте регуляторных сигналов и сигналов развития, а их функциональный вклад становится все более разнообразным по мере усложнения организма. Одними из первых lncRNAs, обнаруженных с помощью традиционных подходов генного картирования, являются Xist (Brown et al., 1992) и H19 (Bartolomei et al., 1991). Интересно, что обе они играют роль в регулировании конкретных процессов развития, подтверждая вышеупомянутый факт, что эволюция некодирующего транскриптома в высших организмах имеет функциональное значение и не является просто “следствием” увеличения (offshoot) размера генома.

lncRNAs вовлечены в различные физиологические и патологические процессы. При раке аберрантная экспрессия и мутации lncRNAs могут способствовать развитию и прогрессированию опухоли, поддерживая пролиферацию, способствуя инвазии и метастазированию и снижая выживаемость пациентов (Gibb et al., 2011; Tsai et al., 2011).

Несколько исследовательских групп проводили анализ lncRNAs, полученных из нормальных клеток и тканей первичных опухолей, с использованием системы секвенирования HiSeq. Так, при изучении транскриптомов из тканей рака легкого было выявлено большое число неизвестных ранее lncRNAs (White et al., 2014). Другое исследование позволило описать тысячи неизвестных ранее lncRNAs в транскриптоме человека (Iyer et al., 2015), причем паттерны экспрессирующихся lncRNAs различны для клеток разных опухолей. Нарушение регуляции некоторых lncRNAs признано сейчас в качестве прогностического фактора и терапевтической мишени для ряда раков. Например, HOTAIR является маркером рака молочной железы и, возможно, способствует его возникновению (Xue et al., 2016). Экспрессия MALAT1 способствует метастазированию немелкоклеточного рака легкого (Gutschner et al., 2013), а HULC идентифицируется как критический регулятор рака поджелудочной железы (Peng et al., 2014).

В настоящем обзоре мы сосредоточили внимание на современных данных о биологических функциях

и механизмах, обеспечивающих вовлеченность длинной некодирующей РНК PANDAR в процессы развития опухолей человека.

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ И ФУНКЦИИ PANDAR

PANDAR также известна под названием PANDA (p21-связанная некодирующая РНК, активируемая повреждением ДНК). Эта lncRNA привлекает наибольшее внимание исследователей среди всех lncRNAs, связанных с канцерогенезом, и характеризуется аберрантной экспрессией во многих типах опухолей. Уровень ее экспрессии повышен при гепатоцеллюлярной карциноме, колоректальном раке, раке желудка, раке мочевого пузыря, остеосаркоме, раке молочной железы, раке щитовидной железы и язвенной карциноме почек и, наоборот, снижен при немелкоклеточном раке легкого (Zou et al., 2018).

PANDAR, первоначально обнаруженная в 2011 г., является 5'-кэпированной и полиаденилированной не сплайсированной lncRNA, а ее ген находится в локусе 6p21.2 длиной 1506 пар нуклеотидов (Hung et al., 2011). Авторы этой работы проводили микрочиповый анализ (ultra high resolution tiling microarray) для тестирования условий транскрипции вблизи участков старта транскрипции 56 генов клеточного цикла, включая все известные циклины, циклинзависимые киназы (CDK) и ингибиторы циклинзависимой киназы (CDKI). В результате они обнаружили, что 216 транскрибированных областей кодируют предполагаемые lncRNAs. Среди этих lncRNAs было описано пять в локусе гена ингибитора циклинзависимой киназы 1A (*CDKN1A*, также известного как *p21*) (Hung et al., 2011). Далее авторы идентифицировали промотор и с помощью количественной ПЦР в реальном времени выяснили, что одна из lncRNAs, а именно PANDAR, характеризовалась наиболее высокой индукцией экспрессии (в 40 раз) при активации промотора. PANDAR, которая транскрибируется как антисмысловая к *CDKN1A*, расположена примерно в 5 тыс. пар нуклеотидов выше от сайта старта транскрипции *CDKN1A*. Транскрипция PANDAR так же, как *CDKN1A* индуцируется фактором p53, который осуществляет регуляторную роль посредством прямого связывания с промоторами различных генов (Levine et al., 1991; Riley et al., 2008). Опухолевый супрессор p53, сайт связывания которого находится в промежутке между PANDAR и *CDKN1A*, вызывает их транскрипцию в ответ на повреждения ДНК в нормальных фибробластах плода человека. Однако их функции совершенно разные. PANDAR затрудняет связывание альфа-субъединицы фактора Y (NF- κ B, тесно связанного с опухолегенезом), с промотором гена-мишени, а затем ограничивает экспрессию проапоптотических генов, таких как *Fas* и *PUMA* (Hung et al., 2011; Garipov et al., 2013; Cicchillitti et al., 2017). Напротив, *CDKN1A* способствует аресту клеточного цикла (Jeon et al., 2014). Иными словами, регуляция сигнальных путей “выше” и “ниже” от

PANDAR чрезвычайно сложна, особенно когда речь идет о развитии рака. Далее мы приводим анализ литературы, описывающей участие PANDAR в биологических процессах, вовлеченных в поддержание различных опухолей человека.

ЭКСПРЕССИЯ PANDAR В РАЗНЫХ ТИПАХ ОПУХОЛЕЙ

PANDAR достаточно детально охарактеризована в работах последних лет как онкогенная lncRNA, экспрессирующаяся во многих опухолях, включая колоректальный рак, рак легких, светлоклеточный рак, холангиокарциному, остеосаркому, рак щитовидной железы и другие виды рака (Zou et al., 2018). Повышенный уровень экспрессии PANDAR обычно коррелирует положительно со стадией злокачественности и отрицательно – с общей выживаемостью пациентов. Кроме того, подавление PANDAR обычно сдерживает распространение, миграцию и инвазию раковых клеток (Zou et al., 2018). Недавно проведен мета-анализ исследований, описывающих использование PANDAR в качестве прогностического фактора для различных типов рака, собраны и проанализированы данные, связанные с общей выживаемостью пациентов и клинико-патологическими особенностями опухолей. Для этого отобрали 10 исследований и проанализировали результаты изучения уровня экспрессии PANDAR в биопсийных образцах от 1231 пациента (Mehrad-Majd et al., 2018). Результаты показали, что экспрессия PANDAR может указывать на прогрессирующее заболевание и плохой прогноз у пациентов, больных раком.

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГКК). Исследование образцов ГКК, полученных от 482 пациентов и 8 клеточных линий карциномы печени подтвердило, что уровень экспрессии PANDAR в них значительно повышен по сравнению с уровнем экспрессии в клетках соседней нормальной ткани печени и нормальных клеточных линий гепатоцитов (Peng, Fan, 2015). Более того, эти авторы показали, что высокий уровень экспрессии PANDAR положительно коррелировал с наличием множественных опухолевых узлов, сосудистой инвазией, низкой выживаемостью больных и коротким периодом ремиссии. Дальнейшие исследования необходимы для выяснения специфических механизмов действия PANDAR в поддержании роста клеток ГКК.

Рак желудка. Показано (Ma P. et al., 2016), что экспрессия PANDAR повышена в тканях рака желудка по сравнению с соседними нормальными тканями, и уровень экспрессии PANDAR положительно коррелирует со степенью инвазии, стадией злокачественности и более частыми метастазами в лимфатические узлы. В клинической практике для анализа результатов терапии пациентов с онкологическими заболеваниями применяют различающиеся между собой типы выживаемости: бессобытийная (event-free survival – EFS), общая (overall survival – OS) и

безрецидивная выживаемость (relapse-free survival – RFS). Классическим методом анализа неполных наблюдений и построения кривых EFS или OS является метод Каплана–Майера. Использование авторами (Ma P. et al., 2016) этого метода оценки выживаемости показало, что у больных раком желудка с повышенным уровнем экспрессии PANDAR наблюдали более короткую общую выживаемость и более высокую частоту рецидивов. Следует отметить, что уровень экспрессии PANDAR в образцах клеток, полученных от пациентов больных раком желудка, имеет прогностическое значение, но механизм реализации функции PANDAR еще предстоит изучить. Сочетание обработки активатором фактора p53 нутлином-3 с нокаутом PANDAR (с использованием технологии CRISPR/Cas9) синергическим образом ингибирует рост опухоли желудка (Liu et al., 2018). Согласно результатам авторов этой работы можно сделать вывод, что PANDAR является не только мощным диагностическим маркером в случае рака желудка, но также имеет противоопухолевые эффекты.

Проведенный недавно метаанализ на основе исследования биопсийных тканей от 6095 пациентов на предмет наличия в их тканях 19 разных lncRNAs показал изменение паттерна экспрессии и наличие положительной корреляции уровня экспрессии с общей выживаемостью пациентов больных раком желудка для следующих lncRNAs: AFAP1-AS1, ANRIL, CASC15, CCAT2, GAPLINC, H19, HOTAIR, HOTTIP, LINC00673, MALAT1, MEG3, PANDAR, PVT1, Sox2ot, UCA1, XIST, ZEB1-AS1 и ZFAS1 (Gao et al., 2018). В качестве надежных кандидатов на роль прогностических маркеров рака желудка были названы AFAP1-AS1, CCAT2, LINC00673, PANDAR, PVT1, Sox2ot, ZEB1-AS1 и ZFAS1 (Gao et al., 2018). Недавние исследования (Esfandi et al., 2019) позволили выявить дополнительный маркер (GHET1), который экспрессировался на самом высоком уровне при раке желудка с метастазами в лимфатические узлы. Диагностические возможности GHET1 были самыми надежными по сравнению с другими, особенно когда GHET1 использовали в комбинации с другими lncRNAs (Esfandi et al., 2019).

Колоректальный рак. PANDAR экспрессируется в клетках этого типа рака и в клеточных линиях аденокарциномы толстой кишки на значительно более высоком уровне по сравнению с нормальными клетками, а увеличенный уровень экспрессии PANDAR положительно коррелирует с диаметром опухоли, гистологической дифференцированностью, стадией злокачественности, наличием метастазов в лимфатические узлы, глубиной инвазии и снижением общей выживаемости пациентов (Lu et al., 2017). Эти авторы описывают PANDAR как независимый прогностический фактор общей выживаемости пациентов с колоректальным раком. В последующих исследованиях (Li X. et al., 2017) было подтверждено, что “молчание” PANDAR уменьшает клеточную проли-

ферацию, миграцию и инвазию, ведет к аресту клеточного цикла и усилению апоптоза клеток колоректального рака *in vitro*.

Учитывая вышеизложенное, можно сказать, что, PANDAR может служить надежным диагностическим маркером, призванным помочь в обосновании и выборе схемы терапевтического воздействия при колоректальном раке. В отличие от исследования Ли с коллегами (Li X. et al., 2017), Чен с коллегами (Chen et al., 2017), отметили, что уровень экспрессии PANDAR увеличивается в клетках, обработанных куркумином, но это способствует старению клеток, а не апоптозу. Согласно этой работе, ингибиторы PANDAR в сочетании с куркумином могут использоваться как высокоэффективная терапевтическая стратегия лечения колоректального рака (Chen et al., 2017). Другие авторы в недавней работе прогнозируют широкую применимость PANDAR в ближайшем будущем при терапии колоректального рака (Rivandi et al., 2019).

Светлоклеточный рак почки. Не так давно показали, что в клетках светло-клеточной карциномы почек экспрессия PANDAR увеличена по сравнению с нормальной тканью и положительно коррелирует со стадией, степенью метастазирования в лимфатические узлы, наличием отдаленных метастазов и снижением выживаемости (Xu et al., 2017). Авторы этой работы, проведя многофакторный анализ, показали, что уровень экспрессии PANDAR является независимым прогностическим фактором общей выживаемости пациентов. Далее они показали, что подавление экспрессии PANDAR замедляет клеточную пролиферацию, инвазию, ведет к аресту клеточного цикла и апоптозу клеток. Таким образом, и в случае светлоклеточного рака PANDAR демонстрирует потенциал нового диагностического и прогностического биомаркера и дает возможность использовать его как терапевтическую мишень при лечении этой карциномы почки.

Немелкоклеточный рак легкого. Этот вид рака является примером противоречивых функций PANDAR. В отличие от приведенных выше примеров солидных опухолей человека, в раковых клетках больных немелкоклеточным раком легкого уровень экспрессии PANDAR (в биопсийных образцах, полученные от 116 пациентов) был значительно снижен по сравнению с нормальными тканями и отрицательно коррелировал с размером опухоли, стадией злокачественности и общей выживаемостью (Han et al., 2015). Таким образом, для немелкоклеточного рака легкого именно пониженный уровень экспрессии PANDAR является маркером плохой выживаемости пациентов. При этом оверэкспрессия PANDAR могла значительно ингибировать пролиферацию клеток немелкоклеточного рака легкого *in vitro* и *in vivo*, т.е. PANDAR функционировала как опухолевый супрессор (Han et al., 2015). Различающиеся функции PANDAR в опухолях разных видов могут быть в значительной степени обусловлены различиями происхождения

опухолевой ткани, влиянием внеклеточного микроокружения и регуляторными факторами, вовлеченными в ап- и даунрегуляцию функционирования клеток той или иной опухоли.

Рак мочевого пузыря. Обнаружена повышенная экспрессия PANDAR в стабильных клеточных линиях рака мочевого пузыря по сравнению с ее экспрессией в смежных не опухолевых тканях и нормальных клетках эпителия мочевого пузыря (Zhan et al., 2016). Авторы показали, что повышенный уровень экспрессии PANDAR положительно коррелирует со стадией злокачественности рака мочевого пузыря и отметили, что ингибирование PANDAR активирует апоптоз клеток и замедляет пролиферацию и миграцию раковых клеток мочевого пузыря. Таким образом, можно сделать вывод, что PANDAR играет роль онкогена в клетках мочевого пузыря и может использоваться как дополнительный маркер при диагностике и лечении рака этого органа (Zhan et al., 2016).

Другие виды рака. Клетки опухоли и стабильных клеточных линий рака молочной железы экспрессируют PANDAR на значительно более высоком уровне чем клетки прилегающей ткани, служившей контролем (Sang et al., 2016). Авторы этой работы показали, кроме того, что нокдаун PANDAR подавлял рост, образование колоний и переход клеток рака молочной железы из фазы G₁ в S клеточного цикла. Показано также, что PANDAR оверэкспрессирован в клеточных линиях остеосаркомы (Kotake et al., 2017). Эти авторы продемонстрировали, что подавление уровня экспрессии PANDAR увеличивало долю клеток находящихся в G₁-фазе клеточного цикла и уменьшало долю клеток в фазах S и G₂/M, из чего следует, что повышенный уровень экспрессии PANDAR может способствовать пролиферации клеток остеосаркомы (Kotake et al., 2017). Другие исследователи (Li Z. et al., 2017) показали, что PANDAR экспрессируется на повышенном уровне и вовлечен в регуляцию функций клеток рака щитовидной железы. Более того, выключение PANDAR ингибировало пролиферацию и инвазию клеток рака щитовидной железы и индуцировало апоптоз клеток (Li Z. et al., 2017). Эти данные свидетельствуют о том, что PANDAR может служить диагностическим биомаркером и потенциальной терапевтической мишенью и при раке щитовидной железы.

Для клеток ткани рака шейки матки тоже описали повышение уровня экспрессии PANDAR, и авторы делают вывод, что PANDAR способствует росту опухоли и может быть использована как биомаркер для ранней диагностики рака шейки матки, а также служить и потенциальной терапевтической мишенью (Huang et al., 2017).

Недавно показали, что PANDAR играет онкогенную роль в возникновении и развитии такой злокачественной опухоли как ретинобластома и может быть предложен как потенциальная терапевтическая мишень для лечения этого разрушительного за-

болевания (Sheng et al., 2018). Авторами было показано, что уровень экспрессии PANDAR в тканях ретинобластомы существенно выше чем в здоровых клетках и положительно коррелирует со стадией злокачественности болезни, степенью инвазии клеток опухоли в зрительный нерв и более низкой степенью дифференцированности клеток этой опухоли (Sheng et al., 2018). Кроме того, эти же исследователи показали, что сайленсинг PANDAR оказывал на опухоль супрессирующее влияние как *in vitro*, так и *in vivo*. Авторы выдвигают предположение, что PANDAR защищает клетки от апоптоза, возможно воздействуя на сигнальный путь Bcl-2/каспаса 3 (Sheng et al., 2018).

Таким образом, аномальная экспрессия PANDAR описана для ряда солидных опухолей. Недавно изучали уровень ее экспрессии у пациентов с лимфомой и обнаружили, что экспрессия PANDAR снижается у пациентов с В-клеточной лимфомой, а подавление PANDAR является фактором плохого прогноза при этом заболевании (Wang et al., 2017). Более того, PANDAR может ингибировать пролиферацию клеток В-клеточной лимфомы через инактивацию сигнального пути MAPK/ERK (Wang et al., 2017). Изучение уровней экспрессии этой lncRNA у больных острым миелоидным лейкозом показало (Yang et al., 2018), что PANDAR экспрессировалась на высоком уровне в клетках крови этих больных, и ее высокий уровень положительно коррелировал с плохим клиническим исходом. Эти авторы (Yang et al., 2018) делают вывод, что экспрессия PANDAR является перспективным биологическим маркером для прогноза развития болезни у пациентов не только с солидными опухолями, но и с гематологическими заболеваниями.

Проведенный недавно максимально полный метаанализ имеющихся в литературе данных, касающихся прогностической ценности использования уровней экспрессии PANDAR при диагностике и лечении различных карцином, включал анализ биопсийных образцов, полученных от 1132 онкологических больных (Tian et al., 2019). Представленные результаты свидетельствуют о том, что повышение уровня PANDAR положительно коррелирует с плохим прогнозом длительности жизни у больных с карциномами и может служить полезным клиническим прогностическим биомаркером (Tian et al., 2019).

МЕХАНИЗМЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ PANDAR

Аберрантная экспрессия PANDAR индуцируется повреждением ДНК р53-зависимым образом. Роль фактора р53 в качестве опухолевого супрессора признается ключевой в развитии рака. Регуляторная сеть этого фактора очень сложна, однако показано, что белок Mdm2 препятствует активирующему действию белка р53, а связывание рибосомальных белков L5, L11 и L23 с Mdm2 ингибирует функцию

Mdm2 и вовлечено в активацию р53 (Takagi et al., 2005; Wang, El-Deiry, 2006; Kruse, Gu, 2009). Задача описания сети регуляции р53 находится за рамками обзора. Нам важно только отметить, что фактор р53 в сигнальной цепи находится выше (upstream) PANDAR и усиливает ее экспрессию, взаимодействуя с промотором. Однако для осуществления этой функции р53 должен быть дикого типа, а не мутантным (Han et al., 2015). Другое исследование указывает, что онкоген *Ras* может повышать экспрессию PANDAR, что в конечном итоге приводит к возникновению опухоли через подавление апоптоза (Kotake et al., 2016). Регулирование PANDAR снизу (downstream) более сложно. Хан с коллегами (Han et al., 2015) показали, что PANDAR регулирует экспрессию гена антиапоптотического фактора Bcl-2, взаимодействуя с NF- κ B, который является эффектором (downstream) PANDAR и активирует транскрипцию проапоптотических генов путем связывания с их промоторами. PANDAR же сдерживает проявление этой функции NF- κ B и, замедляя апоптоз, способствует выживаемости клеток, т.е. играет таким образом важную роль в обеспечении их жизнеспособности (Han et al., 2015).

Результаты одной из исследовательских групп (Kotake et al., 2016) подтвердили, что PANDAR может посттрансляционно стабилизировать белок р53 независимым от NF- κ B образом, что подразумевает наличие авторегуляторной петли обратной связи между р53 и PANDAR. Проведенный недавно комплексный анализ интерактома PANDAR (Pospiech et al., 2018) подтвердил, что ее партнерами являются такие взаимодействующие с ней белки, как U2AF65 и PTBP1, которые, как известно, участвуют в процессинге РНК. Кроме того, показано, что оверэкспрессия PANDAR приводит к снижению уровня экспрессии короткого проапоптотического варианта Bcl-X (Bcl-XS), который регулируется PTBP1. Если параллельно с оверэкспрессией PANDAR проводить оверэкспрессию PTBP1, то этот эффект можно устранить, то есть уровень экспрессии Bcl-XS останется прежним. Это позволяет сделать предположение, что PANDAR играет роль в регулировании событий сплайсинга через своего партнера по взаимодействию – PTBP1 (Pospiech et al., 2018).

Помимо того, что PANDAR действует как апоптотический регулятор, она также может контролировать переход клеток в “состояние старения”, выбирая своих партнеров в соответствии с состоянием, в котором находятся клетки. В пролиферирующих клетках PANDAR функционально и физически взаимодействует с фактором SAFA (скаффолд-аттачмент-фактор) для ингибирования генов, способствующих старению, путем привлечения Bmi1 – члена поликомб-репрессорного комплекса 1 (PRC1) и EZH2 – члена PRC2 к промоторам этих генов. И наоборот, в стареющих клетках PANDAR препятствует экспрессии вовлеченных в пролиферацию генов, обусловленных факторами NF- κ B и E2F (ранним

фактором 2), частично служа “ловушкой” для NFYA (Puvvula et al., 2014). Что касается взаимодействия между PANDAR и Bmi1, то показано (Sang et al., 2016), что PANDAR усиливает связывание Bmi1 с промотором *p16*, и подавляет экспрессию *p16*, из чего следует предположение, что активация пути PANDAR/Bmi1/p16 способствует прогрессии рака молочной железы (Sang et al., 2016). Сигнальный путь PI3K/Akt /mTOR участвует в пролиферации и апоптозе различных раковых клеток. На модели светлоклеточной карциномы почек было показано, что этот сигнальный путь активируется посредством гиперэкспрессии PANDAR (Xu et al., 2017).

Эпителиально-мезенхимный переход (ЭМП) является важным механизмом, вовлеченным в метастазирование рака. Обнаружено, что уровни экспрессии N-кадгерина, виментина, бета-катенина, белков Snail и Twist были заметно уменьшены, тогда как экспрессия E-кадгерина была значительно увеличена вследствие ингибирования PANDAR в клетках колоректального рака (Lu et al., 2017). Этот результат иллюстрирует, что повышение уровня экспрессии PANDAR может содействовать миграции и инвазии клеток колоректального рака, вызывая ЭМТ. Кроме того, есть сообщение, что нокдаун PANDAR усиливает вызванное куркумином старение и апоптоз в клетках частично путем стимулирования экспрессии PUMA, являющегося модулятором апоптоза (p53-upregulated modulator of apoptosis) (Chen et al., 2014). Показано также, что повышение экспрессии PANDAR способствовало пролиферации клеток остеосаркомы посредством ингибирования транскрипции *p18* (Kotake et al., 2017).

Недавно на модели рака яичников показали участие PANDAR в химиорезистентности рака (Wang et al., 2018). Исследователи сообщили, что PANDAR служит отрицательным регулятором чувствительности к цисплатину при раке яичников человека, действуя через регуляцию обратной связи PANDAR/SRFS2/p53 в ядре. Показали, что среди препаратов, широко используемых в терапии рака яичников, цисплатин индуцирует более высокие уровни экспрессии PANDAR по сравнению с доксорубицином и паклитакселом, и эта экспрессия зависит от типа p53, который должен быть диким (wt-p53), а не мутантным. *In vitro* и *in vivo* гиперэкспрессия PANDAR улучшала выживаемость клеток и рост опухоли в ответ на цисплатин, в то время как подавление PANDAR приводило к снижению роста опухоли. Авторы предположили, что регуляция обратной связи PANDAR/SRFS2/p53 приводит к снижению транскрипции проапоптотических генов, связанных с p53, таких как PUMA. Кроме того, эти исследователи отметили, что у пациентов с рецидивирующим раком яичников, получавших лечение препаратами платины, длительность безрецидивного периода положительно коррелировала с уровнем экспрессии PANDAR и SRFS2 и негативно коррелировала с уровнями экспрессии p53/Ser15 и PUMA в этих клинических образцах. Та-

ким образом, для рака яичников подтверждена роль PANDAR в формировании химиорезистентности (Wang et al., 2018). Возможно, эти знания помогут помочь преодолеть резистентность к цисплатину при раке яичников (и, возможно, других типах опухолей).

УЧАСТИЕ lncRNAs В ПОДДЕРЖАНИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ПРИМЕРЕ НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

В то время как плюрипотентные стволовые клетки могут дать начало любой из клеток, специфичных для трех зародышевых слоев, мультипотентные клетки более специализированы или коммитированы к определенному направлению дифференцировки и могут давать начало клеткам определенной линии, например, только нейрональной или только кроветворной. Поскольку они обладают способностью к самообновлению и производству определенного набора клеток, их относят к стволовым клеткам. Мультипотентные стволовые клетки существуют как на эмбриональной, так и на взрослой стадии. На эмбриональных стадиях они дают начало зрелым клеткам соответствующего типа, тогда как взрослые стволовые клетки в основном отвечают за регенерацию и восстановление поврежденных тканей взрослого организма. Интересно обсудить, как lncRNAs участвуют в сети сигнальных путей мультипотентных стволовых клеток.

Один из наиболее эволюционно восприимчивых и сложных органов – мозг – состоит из нейронов с сенсорными и моторными функциями, и глии, действующей в основном как система поддержки клеток самого мозга. В эмбрионе млекопитающего передний мозг содержит стволовые клетки или клетки радиальной глии, которые делятся и специализируются на формировании нейронов и глии, т.е. астроцитов и олигодендроцитов. В неонатальном периоде и впоследствии на взрослой стадии покоящиеся нейральные стволовые клетки находятся в конкретных областях мозга, известных как нейрогенные ниши. Они включают желудочковую и субвентрикулярную зоны и субгранулярную зону зубчатой извилины гиппокампа (Urban, Guillemot, 2014). С целью сравнить lncRNAs в зрелых нейронах и в предшественниках нейронов (нейрональных стволовых клетках) недавно провели сравнение их РНК (Ng et al., 2012). В результате авторы обнаружили 35 lncRNAs, которые экспрессировались на более высоком уровне в зрелых нейронах чем в эмбриональных стволовых клетках или нейронных предшественниках. К этим lncRNAs относятся те, нокдаун которых приводил к отсутствию образования нейронов *in vitro*, а именно: RMST (rhabdomyosarcoma 2-associated transcript), lncRNA_N1, lncRNA_N2 и lncRNA_N3 (Ng et al., 2012). Исследования с использованием гиперэкспрес-

сии RMST показали, что с повышением уровня экспрессии этой некодирующей РНК увеличивается доля нейронов, откуда следует важность роли RMST в нейрональной дифференцировке эмбриональных стволовых клеток человека. Эксперименты с “палдаун” РНК показали, что RMST физически взаимодействует с Sox2. Впоследствии анализ с помощью микроочипов, проведенный для клеток, в которых RMST и Sox2 были подавлены короткими интерферирующими РНК (siRNA), показал, что эти факторы (RMST и Sox2) совместно регулируют определенное подмножество генов, которые важны для нейрогенеза (Ng et al., 2013). Так, в клетках, в которых RMST была подавлена siRNA, нарушалось связывание Sox2 с целевыми генами, что подчеркивает необходимость этой lncRNA в качестве корегулятора Sox2-опосредованного нейрогенеза.

Примером другой lncRNA, участвующей в регуляции пролиферации нейронов, является PAUPAR (Pax6 upstream antisense RNA). Эта lncRNA, расположена на 8.5 тыс. пар нуклеотидов выше гена *Pax6* (кодирующего ключевой фактор транскрипции Pax6) и участвует в пролиферации нейронных клеток-предшественников, спецификации подтипа и пространственном моделировании в мозге (Vance et al., 2014). Даунрегуляция PAUPAR в клетках нейробластомы показала, что функционирование этой lncRNA необходимо для поддержания самообновления клеток-предшественников нейронов, а ее истощение увеличивало рост нейритов и увеличивало появление маркеров нейронной дифференцировки в клетках, то есть к исчерпанию пула предшественников. На генетическом уровне PAUPAR была признана масштабным регулятором экспрессии генов в клетках-предшественниках нейронов, влияющим на экспрессию около 942 генов, большинство из которых вовлечено в синаптическую регуляцию и контроль за клеточным циклом. Интересно, что Pax6 и PAUPAR не только коэкспрессируют общие и специфические наборы генов, но и совместно регулируют некоторые из них (Vance et al., 2014). Авторы этой работы также показали, что истощение PAUPAR (подавление) не влияет на связываемость Pax6 с мишенными генами, что указывает на то, что PAUPAR может привлекать транскрипционные коактиваторы к этим участкам генома и регулировать их экспрессию.

Большая часть исследований, описанных в литературе, сосредоточена на функциональной значимости lncRNAs, транскрибирующихся областях, соседних с генами, которые кодируют белок, необходимый для формирования конкретного паттерна развития. Так, при исследовании экспрессии lncRNA DALI, расположенной ниже (даунстрим) локуса *Pou3f3*, в клетках эмбрионального мозга и в обработанных ретиноевой кислотой эмбриональных стволовых клетках было показано, что DALI коэкспрессируется с белком Pou3f3, который, как известно, играет роль в развитии нервной системы (Chalei

et al., 2014). В клетках нейробластомы истощение (подавление) DALI приводит к уменьшению роста нейритов, что по мнению авторов указывает на то, что DALI требуется для правильной дифференцировки клеток-предшественников в нейроны (Chalei et al., 2014).

Геномные исследования показали, что DALI регулирует такие гены, как *E2f2*, *Fam5b*, *Sparc* и *Dkk1*. Интригующая особенность этой lncRNA заключается в том, что она имеет цис-регуляторный эффект, действуя на соседний ген *Pou3f3*, физически контактируя с ним в нескольких местах, как показано методом 3C (chromosome conformation capture). Одновременно она также проявляет транс-регуляторный эффект, действуя на гены, участвующие в нейральной дифференцировке, регуляции клеточного цикла и внутриклеточной сигнализации, как показано методом CHART-Seq (capture hybridization analysis of RNA targets). Более того, DALI также взаимодействует с ДНК-метилтрансферазой (DNMT1) и регулирует метилирование ДНК специфических локусов гена. Было показано, что нокдаун DALI увеличивает метилирование CpG-богатых участков промоторов *Dlgap5*, *Hmgb2* и *Nos1*, что говорит о сложной сети регуляции нейральных генов, осуществляемую DALI.

Недавно была охарактеризована другая lncRNA — PNKY (Ramos et al., 2015), для которой характерна специфически ядерная локализация нейрон-специфического некодирующего транскрипта, который вовлечен в самоподдержание нейральных стволовых клеток желудочковой зоны в эмбриональном мозге или желудочково-субвентрикулярных зонах во взрослом мозге. PNKY экспрессируется в нейральных стволовых клетках, но при дифференцировке ограничивается только группой астроцитов GFAP⁺. Нокдаун PNKY в монослойных культурах приводил к появлению повышенного числа нейральных клеток Tuj1⁺. Когда сравнивали клетки эмбрионального мозга после ингибирования длинной некодирующей РНК PNKY с контрольными клетками мозга (без подавления PNKY), то обнаружили, что доля Sox2⁺-стволовых клеток снижалась, но субпопуляция TBR2⁺-транзит-амплифицирующихся клеток (промежуточная стадия между стволовыми клетками и нейронами) не пострадала, хотя и произошло увеличение Satb2⁺-молодых нейронов. Эти результаты указывают, что PNKY поддерживает именно нейральные стволовые клетки эмбрионального мозга (Ramos et al., 2015). Изучая механизмы действия PNKY, эти исследователи показали, что она взаимодействует с репрессором нейральной дифференцировки PTBP1, что дало им основание предположить наличие тесной координации между PNKY и PTBP1 для поддержания нейрональных стволовых клеток в головном мозге.

Для успешного применения стволовых клеток при лечении ряда заболеваний человека очень важно знать мельчайшие детали молекулярных механиз-

мов процессов их дифференцировки в конкретные ростки (направления). Понимание роли lncRNAs в качестве ключевых участников тонкой настройки процессов дифференцировки дает надежду на то, что регенеративная медицина в ближайшем будущем станет успешной стратегией клинической практики.

РОЛЬ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В СТВОЛОВОМ КЛЕТОЧНОМ КОМПОНЕНТЕ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Лечение злокачественных опухолей головного мозга остается сложной проблемой из-за ряда причин, в числе которых многообразие генетических и эпигенетических факторов, а также условий микроокружения, которые управляют поддержанием статуса опухолевых стволовых клеток (ОСК). ОСК головного мозга обладают лекарственной устойчивостью благодаря повышенной экспрессии белков, вовлеченных в активную откачку лекарственных препаратов (drug efflux) (Hirschmann-Jax et al., 2004), которая делает их устойчивыми к факторам цитотоксичности и апоптозу. Другие факторы, такие, например, как характерная для расположения опухоли мозга гипоксия, прямые межклеточные взаимодействия, локальная секреция цитокинов ИЛ-6 или фактора 1, продуцируемого стромальными клетками, репарация ДНК и микро-РНК (miRNA) также вносят свой вклад и вовлечены в формирование лекарственной устойчивости глиобластомы (Costa et al., 2015).

Отмечено, что экспрессия miR-148b-3p снижается в ряде опухолевых клеточных линий (Song et al., 2011). Сообщают, что miR-148b-3p подавляет пролиферацию клеток глиомы, прогрессию клеточного цикла и инвазию посредством ингибирования экспрессии одной из lncRNAs – HOTAIR. Кроме того, было продемонстрировано, что miR-148b-3p связывается с определенным сайтом HOTAIR (Wang et al., 2016). В другой работе (Ke et al., 2015) показано, что HOTAIR способствует развитию глиомы путем ингибирования miR-326 и дальнейшего повышения экспрессии фактора роста фибробластов 1 (FGF1), который обладает значительной онкогенной функцией, осуществляемой через активацию путей MEK1/2 и РТЗК/АКТ (Надари et al., 2001).

Одна из микроРНК (miR-675-5p), находящаяся в первом экзоне длинной некодирующей РНК H19, ап-регулируется в нескольких типах рака, включая глиому (Shi et al., 2014). Авторы этой работы сообщают также, что овер-экспрессия H19 приводит к повышению уровня ее производной (miR-675), что, в свою очередь, приводит к усилению инвазии и пролиферации клеток глиомы, тогда как снижение уровня экспрессии H19 вызывает понижение экспрессии miR-675, тем самым ингибируя опухолевый рост. Биоинформатический анализ и репортерный анализ с использованием экспрессии люциферазы подтвердили основные механизмы этой связи; miR-675 ингибирует кадгерин 13 и циклин-зависимую

киназу CDK6, непосредственно таргетируя сайт связывания на участке 3'UTR (Shi et al., 2014; Li et al., 2015). Известно, что гипоксия считается основной движущей силой роста глиомы и ангиогенеза. Было показано, что избыточная экспрессия miR-675-5p достаточна для индуцирования гипоксии в условиях нормоксии за счет увеличения содержания ядерного HIF-1 α и уровня его мРНК; более того, истощение miR-675-5p резко “отменяет” гипоксию за счет снижения уровня HIF-1 α (Li et al., 2015). В дополнение к miR-675, miR-29a также может служить потенциальной мишенью для H19 в ангиогенезе глиомы. Действительно, нокдаун H19 ингибирует глиому и индуцирует пролиферацию, миграцию и образование эндотелиальных клеток путем уменьшения экспрессии miR-29a.

Недавние исследования lncRNA в глиомах вызвали большой интерес, поскольку позволили продемонстрировать и доказать, что lncRNAs вовлечены в регуляцию инициации злокачественности и прогрессирования роста опухоли. На основе появляющихся данных о имеющейся взаимосвязи функций микроРНК и lncRNA в обеспечении контроля инициации и прогрессирования глиомы, можно предположить, что эти взаимодействия также могут служить терапевтическими мишенями при лечении глиомы.

Мультиформная глиобластома (МФГБ) является наиболее распространенным и агрессивным типом первичной опухоли головного мозга у человека. В недавнем исследовании 1308 lncRNAs была выявлена разница между уровнями экспрессии в тканях МФГБ и нормальных тканях мозга: 654 имели повышенный уровень экспрессии и 654 – пониженный. Анализ сети генов в этой же работе показал, что некоторые из них (ASLNC22381 и ASLNC20819) регулируются путем таргетирования фактора роста инсулина 1 (IGF1) при рецидивах и прогрессировании МФГБ (Han et al., 2012). Другие авторы (Zhang et al., 2013) тоже выявили снижение экспрессии lncRNAs, таких как PART1 (андроген-регулируемого транскрипта простаты 1), MIAT (транскрипта, ассоциированного с инфарктом миокарда) и GAS5 (специфического для остановки роста фактора 5) в МФГБ. Эти данные позволяют предположить, что дисрегуляция экспрессии lncRNAs может быть ранним событием процесса опухолегенеза, и эти lncRNA могут быть инициаторами глиомы.

Нашей экспериментальной задачей является определение роли оверэкспрессии PANDAR в обеспечении миграционного потенциала клеток и поддержании ими стволовости (в частности, характерной для ОСК химиорезистентности) и выяснить, может ли PANDAR быть прогностическим маркером глиобластомы и мишенью при проведении лечения, направленного на подавление стволового компонента опухоли.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в Лаборатории молекулярных основ дифференцировки клеток Института цитологии РАН при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, госзадание № 0124-2019-0002.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Экспериментов с участием животных или людей авторы не проводили.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bao S., Wu Q., Li Z. et al. 2008. Targeting cancer stem cells through L1CAM suppresses glioma growth. *Cancer Res.* 68: 6043–6048.
- Bartolomei M.S., Zemel S., Tilghman S.M. 1991. Parental imprinting of the mouse H19 gene. *Nature.* 351: 153–155.
- Brown C.J., Hendrich B.D., Rupert J.L., Lafrenière R.G., Xing Y., Lawrence J., Willard H.F. 1992. The human XIST gene: analysis of a 17 kb inactive X-specific RNA that contains conserved repeats and is highly localized within the nucleus. *Cell.* 71: 527–542.
- Chalei V., Sansom S.N., Kong L., Lee S., Montiel J.F., Vance K.W., Ponting C.P. 2014. The long non-coding RNA DALI is an epigenetic regulator of neural differentiation. *Elife.* 3: e04530.
- Chen D., Wei L., Yu J., Zhang L. 2014. Regorafenib inhibits colorectal tumor growth through PUMA-mediated apoptosis. *Clin. Cancer Res.* 20: 3472–3484.
- Chen T., Yang P., Wang H., He Z.Y. 2017. Silence of long non-coding RNA PANDAR switches low-dose curcumin-induced senescence to apoptosis in colorectal cancer cells. *Oncotargets Ther.* 10: 483–491.
- Chen W.K., Yu X.H., Yang W., Wang C., He W.S., Yan Y.G., Zhang J., Wang W.J. 2017. LncRNAs: Novel players in intervertebral disc degeneration and osteoarthritis. *Cell Proliferation.* 50: 11–14.
- Cicchillitti L., Corrado G., Carosi M., Dabrowska M.E., Loria R., Falcioni R., Cuttillo G., Piaggio G., Vizza E. 2017. Prognostic role of NF-YA splicing isoforms and lamin A status in low grade endometrial cancer. *Oncotargets.* 8: 7935–7945.
- Costa P.M., Cardoso A.L., Custódia C. et al. 2015. MiRNA-21 silencing mediated by tumor-targeted nanoparticles combined with sunitinib: A new multimodal gene therapy approach for glioblastoma. *J. Control Release.* 207: 31–39.
- Dunham I., Kundaje A., Aldred S.F. et al. (ENCODE Project Consortium). 2012. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature.* 489: 57–74.
- Esfandi F., Taheri M., Kholghi Oskoei V., Ghafouri-Fard S. 2019. Long noncoding RNAs expression in gastric cancer. *J. Cell. Biochem.* <https://doi.org/10.1002/jcb.28653>
- Gao S., Zhao Z.Y., Wu R., Zhang Y., Zhang Z.Y. 2018. Prognostic value of long noncoding RNAs in gastric cancer: A meta-analysis. *Oncotargets Ther.* 11: 4877–4891.
- Garipov A., Li H., Bitler B.G., Thapa R.J., Balachandran S., Zhang R. 2013. NF-YA underlies EZH2 upregulation and is essential for proliferation of human epithelial ovarian cancer cells. *Mol. Cancer Res.* 11: 360–369.
- Gibb E.A., Brown C.J., Lam W.L. 2011. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol. Cancer.* 10: 38.
- Gutschner T., Hammerle M., Eissmann M., Hsu J., Kim Y., Hung G., Revenko A., Arun G., Stenrup M., Gross M., Zornig M., MacLeod A.R., Spector D.L. et al. 2013. The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. *Cancer Res.* 73: 1180–1189.
- Hadari Y., Gotoh N., Kouhara H., Lax I., Schlessinger J. 2001. Critical role for the docking-protein FRS2 alpha in FGF receptor-mediated signal transduction pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98: 8578–8583.
- Han L., Zhang K., Shi Z., Zhang J., Zhu J., Zhu S., Zhang A., Jia Z., Wang G., Yu S., Pu P., Dong L., Kang C. 2012. LncRNA profile of glioblastoma reveals the potential role of lncRNAs in contributing to glioblastoma pathogenesis. *Int. J. Oncol.* 40: 2004–2012.
- Han L., Zhang E.B., Yin D.D., Kong R., Xu T.P., Chen W.M., Xia R., Shu Y.Q., De W. 2015. Low expression of long noncoding RNA PANDAR predicts a poor prognosis of non-small cell lung cancer and affects cell apoptosis by regulating Bcl-2. *Cell Death Dis.* 6: e1665.
- Harrow J., Frankish A., Gonzalez J.M., Tapanari E., Diekhans M., Kokocinski F. et al. 2012. GENCODE: The reference human genome annotation for the ENCODE project. *Genome Res.* 22: 1760–1774.
- Heaney A.P. 2011. Clinical review: Pituitary carcinoma: Difficult diagnosis and treatment. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96: 3649–3660.
- Hirschmann-Jax C., Foster A.E., Wulf G.G. et al. 2004. A distinct (B)side population of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101: 14228–14233.
- Huang H.W., Xie H., Ma X., Zhao F., Gao Y. 2017. Upregulation of lncRNA PANDAR predicts poor prognosis and promotes cell proliferation in cervical cancer. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 21: 4529–4535.
- Hung T., Wang Y., Lin M. F., Koegel A. K., Kotake Y., Grant G.D., Horlings H.M., Shah N., Umbricht C., Wang P., Wang Y., Kong B., Langerød A., Borresen-Dale A.L., Kim S.K., van de Vijver M. et al. 2011. *Nat. Genet.* 43: 621–629.
- Huttenhofer A., Schattner P., Polacek N. 2005. Non-coding RNAs: Hope or hype? *Trends Genet.* 21: 289–297.
- Iyer M.K., Niknafs Y.S., Malik R., Singhal U., Sahu A., Hosono Y., Barrette T.R., Prensner J.R., Evans J.R., Zhao S., Poliakov A., Cao X., Dhanasekaran S.M. et al. 2015. The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome. *Nat. Genet.* 47: 199–208.
- Jeon B.N., Kim M.K., Yoon J.H., Kim M.Y., An H., Noh H.J., Choi W.I., Koh D.I., Hur M.W. 2014. Two ZNF509

- (ZBTB49) isoforms induce cell-cycle arrest by activating transcription of p21/CDKN1A and RB upon exposure to genotoxic stress. *Nucleic Acids Res.* 42: 11447–11461.
- Kawai J., Shinagawa A., Shibata K., Yoshino M. et al. (RIKEN genome exploration research group phase II team and the FANTOM Consortium) 2001. Functional annotation of a full-length mouse cDNA collection. *Nature.* 6821: 685–690.
- Ke J., Yao Y.L., Zheng J., Wang P., Liu Y.H., Ma J., Li Z., Liu X.B., Li Z.Q., Wang Z.H., Xue Y.X. 2015. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR inhibits malignant biological behaviors of human glioma cells via modulation of miR-326. *Oncotarget.* 6: 21934–21949.
- Kotake Y., Goto T., Naemura M., Inoue Y., Okamoto H., Tahara K. 2017. Long noncoding RNA PANDA positively regulates proliferation of osteosarcoma cells. *Anticancer Res.* 37: 81–85.
- Kotake Y., Kitagawa K., Ohhata T., Sakai S., Uchida C., Niida C., Naemura M., Kitagawa M. 2016. Long Non-coding RNA, PANDA, Contributes to the Stabilization of p53 Tumor Suppressor Protein. *Anticancer Res.* 36: 1605–1611.
- Kotake Y., Naemura M., Kitagawa K., Niida H., Tsunoda T., Shirasawa S., Kitagawa M. 2016. Oncogenic Ras influences the expression of multiple lncRNAs. *Cytotechnol.* 4: 1591–1596.
- Kruse J., Gu W. 2009. Modes of p53 regulation. *Cell.* 137: 609–622.
- Levine A.J., Momand J., Finlay C.A. 1991. The p53 tumour suppressor gene. *Nature.* 351: 453–456.
- Li C., Lei B., Huang S., Zheng M., Liu Z., Li Z., Deng Y. 2015. H19 derived microRNA-675 regulates cell proliferation and migration through CDK6 in glioma. *Am. J. Transl. Res.* 7: 1747–1764.
- Li J., Li Z., Zheng W., Li X., Wang Z., Cui Y., Jiang X. 2017. PANDAR: A pivotal cancer-related long non-coding RNA in human cancers. *Mol. Biosyst.* 13: 2195–2201.
- Li P., Ruan X., Yang L., Kiesewetter K., Zhao Y., Luo H., Chen Y., Gucek M., Zhu J., Cao H. 2015. A liver-enriched long non-coding RNA, lncLSTR, regulates systemic lipid metabolism in mice. *Cell Metab.* 21: 455–467.
- Li X., Wang F., Sun Y., Fan Q., Cui G. 2017. Expression of Long Non-Coding RNA PANDAR and its Prognostic Value in Colorectal Cancer Patients. *Int. J. Biol. Markers.* 2: 218–223.
- Li Z., Gao B., Hao S., Tian W., Chen Y., Wang L., Zhang X., Luo D. 2017. Knockdown of lncRNA-PANDAR suppresses the proliferation, cell cycle and promotes apoptosis in thyroid cancer cells. *EXCLI J.* 16: 354–362.
- Ling H., Vincent K., Pichler M., Fodde R., Berindan Neagoe I., Slack F.J., Calin G.A. 2015. Junk DNA and the long non-coding RNA twist in cancer genetics. *Oncogene.* 34: 5003–5011.
- Liu J., Ben Q., Lu E., He X., Yang X., Ma J., Zhang W., Wang Z., Liu T., Zhang J., Wang H. 2018. Long noncoding RNA PANDAR blocks CDKN1A gene transcription by competitive interaction with p53 protein in gastric cancer. *Cell Death Dis.* 9: 168.
- Lu M., Liu Z., Li B., Wang G., Li D., Zhu Y. 2017. The high expression of long non-coding RNA PANDAR indicates a poor prognosis for colorectal cancer and promotes metastasis by EMT pathway. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 143: 71–81.
- Ma P., Xu T., Huang M., Shu Y. 2016. Increased expression of lncRNA PANDAR predicts a poor prognosis in gastric cancer. *Biomed. Pharmacother.* 78: 172–176.
- Ma Y., Yang Y., Wang E., Moyer M.P., Wei Q., Zhang P., Yang Z., Liu W., Zhang H., Chen N., Wang H., Qin H. 2016. Long non-coding RNA CCAL regulates colorectal cancer progression by activating Wnt/ β -catenin signalling pathway via suppression of activator protein 2 α . *Gut.* 65: 1494–1504.
- Mehrad-Majd H., Akhtari J., Haerian M.S., Ravanshad Y. 2018. Clinicopathological and prognostic value of lncRNA PANDAR expression in solid tumors: Evidence from a systematic review and meta-analysis. *J. Cell. Physiol.* 4: 4206–4216.
- Ng S.Y., Bogu G.K., Soh B.S., Stanton L.W. 2013. The long non-coding RNA RMST interacts with SOX2 to regulate neurogenesis. *Mol. Cell.* 51: 349–359.
- Ng S.Y., Johnson R., Stanton L.W. 2012. Human long non-coding RNAs promote pluripotency and neuronal differentiation by association with chromatin modifiers and transcription factors. *The EMBO J.* 3: 522–533.
- Peng W., Fan H. 2015. Long non-coding RNA PANDAR correlates with poor prognosis and promotes tumorigenesis in hepatocellular carcinoma. *Biomed. Pharmacother.* 72: 113–118.
- Peng W., Gao W., Feng J. 2014. Long noncoding RNA HULC is a novel biomarker of poor prognosis in patients with pancreatic cancer. *Med. Oncol.* 31: 346.
- Pickard M.R., Williams G.T. 2016. The hormone response element mimic sequence of GAS5 lncRNA is sufficient to induce apoptosis in breast cancer cells. *Oncotargets.* 7: 10104–10116.
- Pospiech N., Cibis H., Dietrich L., Müller F., Bange T., Hennig S. 2018. Identification of novel PANDAR protein interaction partners involved in splicing regulation. *Sci. Rep.* 8: 2798.
- Puvvula P.K., Desetty R.D., Pineau P., Marchio A., Moon A., Dejean A., Bischof O. 2014. Long noncoding RNA PANDA and scaffold-attachment-factor SAFA control senescence entry and exit. *Nat. Commun.* 5: 5323.
- Ramos A.D., Andersen R.E., Liu S.J., Nowakowski T.J., Hong S.J., Gertz C., Salinas R.D., Zarabi H., Kriegstein A.R., Lim D.A. 2015. The long noncoding RNA PNKY regulates neuronal differentiation of embryonic and postnatal neural stem cells. *Cell Stem Cell.* 16: 439–447.
- Riley T., Sontag E., Chen P., Levine A. 2008. Transcriptional control of human p53-regulated genes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9: 402–412.
- Rivandi M., Pasdar A., Hamzeshadeh L., Tajbakhsh A., Seifi S., Moetamani-Ahmadi M., Ferns G.A. 2019. The prognostic and therapeutic values of long noncoding RNA PANDAR in colorectal cancer. *Avan AJ Cell Physiol.* 234: 1230–1236.
- Ruan X., Li P., Cangelosi A., Yang L., Cao H. 2016. A long non-coding RNA, lncLGR, regulates hepatic glucokinase expression and glycogen storage during fasting. *Cell Rep.* 14: 1867–1875.

- Sang Y., Tang J., Li S., Li L., Tang X., Cheng C., Luo Y. et al. 2016. lncRNA PANDAR regulates the G1/S transition of breast cancer cells by suppressing p16INK4A expression. *Sci. Rep.* 6: 22366.
- Sheng L., Wu J., Gong X., Dong D., Sun X. 2018. SP1-induced upregulation of lncRNA PANDAR predicts adverse phenotypes in retinoblastoma and regulates cell growth and apoptosis *in vitro* and *in vivo*. *Gene.* 668: 140–145.
- Shi Y., Wang Y., Luan W., Wang P., Tao T., Zhang J., Qian J., Liu N., You Y. 2014. Long non-coding RNA H19 promotes glioma cell invasion by deriving miR-675. *PLoS One.* 1: e86295.
- Song Y.X., Yue Z.Y., Wang Z.N., Xu Y.Y., Luo Y., Xu H.M., Zhang X., Jiang L., Xing C.Z., Zhang Y. 2011. MicroRNA-148b is frequently down-regulated in gastric cancer and acts as a tumor suppressor by inhibiting cell proliferation. *Mol. Cancer.* 10: 1.
- Sun M., Nie F., Wang Y., Zhang Z., Hou J., He D., Xie M. et al. 2016. lncRNA HOXA11-AS promotes proliferation and invasion of gastric cancer by scaffolding the chromatin modification factors PRC2, LSD1, and DNMT1. *Cancer Res.* 76: 6299–6310.
- Sun T.T., He J., Liang Q., Ren L.L., Yan T.T., Yu T.C., Tang J.Y., Bao Y.J., Hu Y., Lin Y. et al. 2016. lncRNA GCln1 promotes gastric carcinogenesis and may act as a modular scaffold of WDR5 and KAT2A complexes to specify the histone modification pattern. *Cancer Discovery.* 6: 784–801.
- Takagi M., Absalon M.J., McLure K.G., Kastan M.B. 2005. Regulation of p53 translation and induction after DNA damage by ribosomal protein L26 and nucleolin. *Cell.* 123: 49–63.
- Tian L., Chen X., Lun L., Tian Q., Wang Q., Li H., Song J., Jing X., Zhang Y., Tian R. 2019. lncRNA PANDAR is a novel prognostic biomarker in patients with cancer: A meta-analysis. *Clin. Lab.* 65. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2018.180622>
- Tsai M.C., Spitale R.C., Chang H.Y. 2011. Long intergenic non-coding RNAs: New links in cancer progression. *Cancer Res.* 71: 3–7.
- Urban N., Guillemot F. 2014. Neurogenesis in the embryonic and adult brain: Same regulators, different roles. *Front. Cell. Neurosci.* 8: 396.
- Vance K.W., Sansom S.N., Lee S., Chalei V., Kong L., Cooper S.E., Oliver P.L., Ponting C.P. 2014. The long non-coding RNA Paupar regulates the expression of both local and distal genes. *EMBO J.* 33: 296–311.
- Van Cutsem E., Sagaert X., Topal B., Haustermans K., Prenen H. 2016. Gastric cancer. *Lancet.* 388: 2654–2664.
- Wang H., Fang L., Jiang J., Kuang Y., Wang B., Shang X., Han P., Li Y., Liu M., Zhang Z., Li P. 2018. The cisplatin-induced lncRNA PANDAR dictates the chemoresistance of ovarian cancer via regulating SFRS2-mediated p53 phosphorylation. *Cell Death Dis.* 9: 1103.
- Wang G., Li Z., Tian N., Han L., Fu Y., Guo Z., Tian Y. 2016. miR-148b-3p inhibits malignant biological behaviors of human glioma cells induced by high HOTAIR expression. *Oncol. Lett.* 12: 879–886.
- Wang K.C., Yang Y.W., Liu B., Sanyal A., Corces-Zimmerman R., Chen Y., Lajoie B.R., Protacio A., Flynn R.A., Wysocka J., Lei M., Dekker J., Helms J.A., Chang H.Y. 2011. A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Mol. Cell.* 43: 904–914.
- Wang S., El-Deiry W.S. 2006. p73 or p53 directly regulates human p53 transcription to maintain cell cycle checkpoints. *Cancer Res.* 66: 6982–6989.
- Wang Y., Zhang M., Xu H., Wang Y., Li Z., Chang Y., Wang X., Fu X., Zhou Z., Yang S., Wang B., Shang Y. 2017. Discovery and validation of the tumor-suppressive function of long noncoding RNA PANDA in human diffuse large B-cell lymphoma through the inactivation of MAPK/ERK signaling pathway. *Oncotarget.* 8: 72182–72196.
- Watters R.J., Loughran T.P. 2013. Diagnosing large granular lymphocyte leukemia is bloody difficult. *Leukemia & Lymphoma.* 2: 438–439.
- White N.M., Cabanski C.R., Silva-Fisher J.M., Dang H.X., Govindan R., Maher C.A. 2014. Transcriptome sequencing reveals altered long intergenic non-coding RNAs in lung cancer. *Genome Biol.* 15: 429.
- Xu Y., Tong Y., Zhu J., Lei Z., Wan L., Zhu X., Ye F., Xie L. 2017. An increase in long non-coding RNA PANDAR is associated with poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *BMC Cancer.* 1: 373.
- Xue X., Yang Y.A., Zhang A., Fong K.W., Kim J., Song B., Li S., Zhao J.C., Yu J. 2016. lncRNA HOTAIR enhances ER signaling and confers tamoxifen resistance in breast cancer. *Oncogene.* 35: 2746–2755.
- Yang L., Zhou J.D., Zhang T.J., Ma J.C., Xiao G.F., Chen Q., Deng Z.Q., Lin J., Qian J., Yao D.M. 2018. Overexpression of lncRNA PANDAR predicts adverse prognosis in acute myeloid leukemia. *Cancer Manag. Res.* 10: 4999–5007.
- Yang S., Ning Q., Zhang G., Sun H., Wang Z., Li Y. 2016. Construction of differential mRNA-lncRNA crosstalk networks based on ceRNA hypothesis uncover key roles of lncRNAs implicated in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotargets.* 7: 85728–85740.
- Zhan Y., Lin J., Liu Y., Chen M., Chen X., Zhuang C., Liu L. et al. 2016. Up-regulation of long non-coding RNA PANDAR is associated with poor prognosis and promotes tumorigenesis in bladder cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 1: 83.
- Zhang A., Zhang J., Kaipainen A., Lucas J.M., Yang H. 2016. Long non-coding RNA: A newly deciphered “code” in prostate cancer. *Cancer Lett.* 375: 323–330.
- Zhang X.Q., Sun S., Lam K.F., Kiang K.M., Pu J.K., Ho A.S., Lui W.M., Fung C.F., Wong T.S., Leung G.K. 2013. A long non-coding RNA signature in glioblastoma multiforme predicts survival. *Neurobiol. Dis.* 58: 123–131.
- Zou Y., Zhong Y., Wu J., Xiao H., Zhang X., Liao X., Li J., Mao X., Liu Y., Zhang F. 2018. Long non-coding PANDAR as a novel biomarker in human cancer: A systematic review. *Cell Prolif.* 1: e12422.
- Zugazagoitia J., Guedes C., Ponce S., Ferrer I., Molina Pinelo S., Paz-Ares L. 2016. Current challenges in cancer treatment. *Clin. Ther.* 38: 1551–1566.

**LONG NON-CODING RNAs IN HUMAN CANCERS
(ON THE EXAMPLE OF PANDAR)**

S. A. Koshkin^a, L. S. Adonin^a, M. A. Ivanova^a, and E. N. Tolkunova^a, *

^aInstitute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064 Russia

**E-mail: entolk62@mail.ru*

Long noncoding RNAs (lncRNAs) consist of 200 nucleotide sequences that play essential roles in different processes, including cell proliferation, and differentiation. Abundant studies have shown that lncRNA PANDAR plays an oncogenic role in human solid tumors. Although abnormal expression of PANDAR has been well investigated in solid tumors, it was rarely studied in glioblastoma. In this review, we summarize current evidence regarding the biological functions and mechanisms of PANDAR during tumor development.

Keywords: long non-coding RNA, diagnostic and predictive markers of cancer, cancer stem cells