

BC200 ncRNA의 최근 연구 동향

한국과학기술원 이영훈 교수

1. 개요

2001년 인간게놈 프로젝트를 통하여 유전체 전체 서열 중 단백질이 만들어지는 구역은 단 2%에 불과하다는 것이 알려졌다.¹ 이는 단백질 중심의 해석이 주를 이루어 왔던 분자생물학계의 큰 파장을 가져왔다. 이후 진행된 ENCODE 프로젝트에서는 전체 서열의 약 60%가 넘는 구역에서 RNA를 합성되고 있다는 것이 밝혀졌고 세포 내에서 단백질을 만들어내는 부호화 RNA(coding RNA)보다 단백질을 만들어내지 않는 비부호화 RNA(noncoding RNA, ncRNA)가 훨씬 다양하게 존재하는 것이 확인되었다(그림 1).²

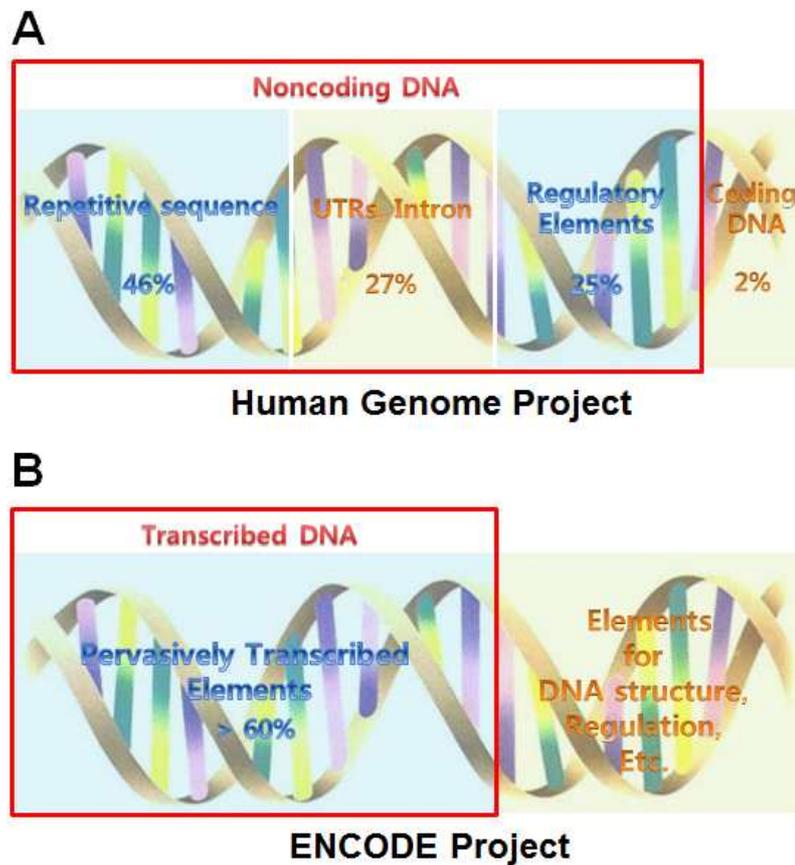


그림 1. 인간 게놈 프로젝트와 ENCODE 프로젝트.

발견 초기 ncRNA는 특별한 기능이 없는 전사 부산물(Transcriptional noise)로 여겨졌지만 후속 연구를 통하여 생체 내 주요 기능들이 밝혀지고 있다. 1993년 대표적 ncRNA인 micro-RNA(miRNA)의 기능이 처음으로 확인되었고 이후 다양한 RNA의 생체 내 기능을 밝히는 연구가 진행되고 있다.³ 암을 비롯한 다양한 질병 모델에서도 ncRNA는 중요한 역할을 담당하고 있다. 발병과정에서 비이상적인 발현을 보이거나 발병 메커니즘에 결정적인 역할을 하고 있는 ncRNA들이 새로운 신약 타겟 물질로써 주목을 받고 있다.⁴

BC200(brain cytoplasmic 200) RNA는 뉴런 특이적으로 발현하는 200 nt 길이의 ncRNA이다. 발현 직후 수상돌기(dendrite) 부근으로 이동하여 단백질 번역 작용을 조절하면서 신경가소성(neuronal plasticity) 형성하는 데에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.⁵ 1997년 Henri Tidege 교수는 각종 암세포에서 BC200 RNA가 비이상적인 발현을 보인다는 것을 확인하였고 최근 들어 암세포 내 BC200 RNA의 기능을 밝히는 연구가 활발히 진행되고 있다.⁶ 본 논고에서는 BC200 RNA의 초기와 최근의 연구 동향을 정리해보고, 향후 BC200 RNA 연구의 모델이 될 수 있는 신약 타겟 ncRNA들의 연구 동향을 살펴보고자 한다.

2. BC200 RNA

2.1. 초기 연구

1982년 설치류의 뉴런에서 160 nt 크기의 BC1 RNA가 발견되었다.⁷ 뉴런 특이적으로 존재하는 mRNA를 검색하던 중에 우연히 작은 크기의 RNA가 관측되면서 확인되었다. 발견 초기에는 mRNA 가공과정(processing) 중에 발생한 부산물일 것이라는 해석이 있었지만 RNA 중합효소 III(RNA polymerase III)에 의하여 독립적으로 발현되는 ncRNA라는 것이 밝혀졌다. 이후 영장류에서 비슷한 특징의 RNA가 존재하는 것이 확인되었고 BC200 RNA로 명명되었다(그림 2).⁸ BC200 RNA는 5' 말단 Alu 유사 도메인(5' terminal Alu like domain), A가 많은 중앙 도메인(central A rich domain), 3' 말단 특유 도메인(3' terminal unique domain)으로 구성되어 있다. BC200 RNA와 BC1 RNA를 비교해보면 전체 서열의 일치도는 60% 미만이지만 A가 많은 도메인과 3' 말단 특유 도메인에서는 91% 이상의 일치도를 가지고 있다.

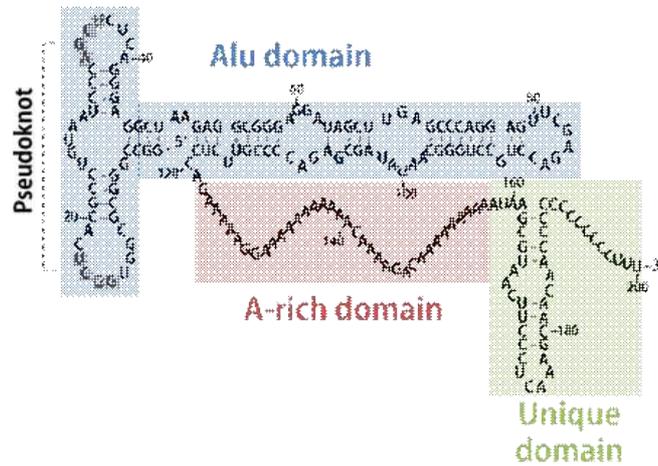


그림 2. BC200 RNA의 서열과 구조.

2.2. 정상세포 내 기능 연구

BC200 RNA는 세포 내 다양한 인자들과 결합하고 있다(표 1). 전사 후 hnRNP A2와 결합하여 수상돌기 구역으로 이동하여 eIF4A, eIF4B, PABP 등의 번역 개시 인자들과 결합한다. 이 결합으로 BC200 RNA는 48S 리보솜 복합체 형성을 저해하고 수상돌기 특이적으로 단백질 번역을 억제한다.

표 1. BC200 RNA의 세포내 결합 인자

BC200 결합 인자	세포내 기능	참고문헌
eIF4A	번역 개시 인자	9
eIF4B	번역 개시 인자	10
PABP	번역 개시 인자	11
hnRNP A2	RNA 결합 단백질	12
hnRNP E1	RNA 결합 단백질	13
hnRNP E2	RNA 결합 단백질	13
FMRP	RNA 결합 단백질	14
SYNCRIP	RNA 결합 단백질	15
RHAU	RNA 나선효소	16

이러한 번역 억제 기능은 세포내에서 정교하게 조절되고 있다. hnRNP E1 과 E2는 BC200 RNA의 A가 많은 도메인과 3' 말단 특유 도메인에 걸쳐 결합하여 번역 개시 인자들과의 결합을 방해하여 번역 억제 기능을 조절하고 있다.¹³

그밖에 BC200 RNA는 4중나선 RNA 나선효소(quadruplex RNA helicase)인 RHAU 효소 활성을 돕는다는 보고가 있다.¹⁶

2.3. 암세포 내 비이상적인 발현과 영향

BC200 RNA는 정상세포에서 뉴런 특이적인 발현 양상을 보이지만 암세포로 변이가

발생할 경우 다양한 조직에서 비이상적으로 발현된다. 1997년 폐암, 유방암, 자궁경부암 조직에서 비이상적 발현이 최초로 확인되었고 2004년에는 암의 진행정도에 따라 BC200 발현이 점진적으로 증가된다는 보고가 있었다.^{6,17} 유전자상에서 두 개의 프로모터(상위영역과 내부영역 프로모터)에 의해 전사가 일어나고 발암유전자인 c-MYC 전사인자에 의해 발현이 촉진된다.^{18,19}

최근 들어 암세포 내 BC200 RNA의 영향을 밝히는 연구가 활발히 진행되고 있다. 암세포의 주요한 특징별로 BC200 RNA 영향을 정리해 보았다(그림 3).

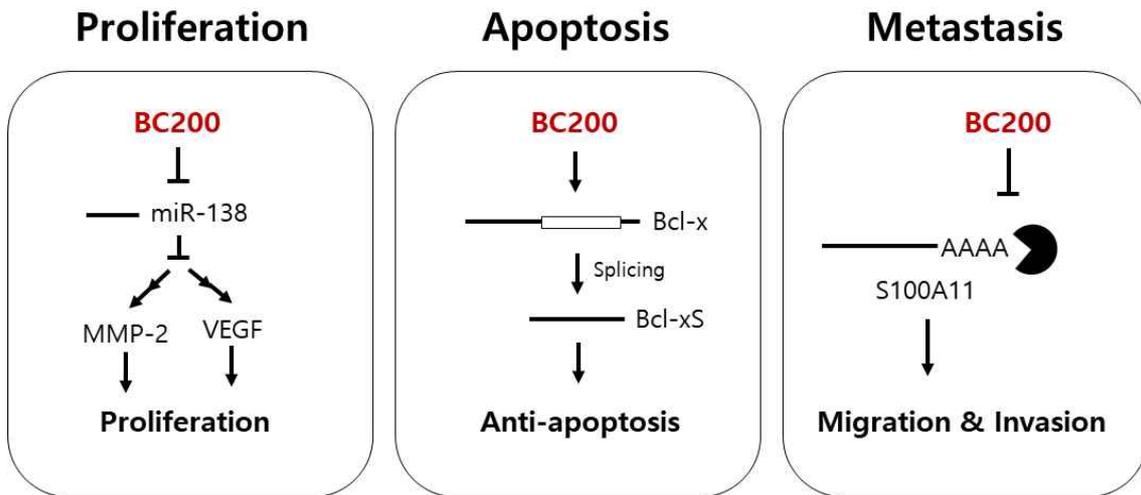


그림 3. 암세포 내 BC200 RNA의 영향.

2.3.1. 증식

자궁경부암 조직에서 BC200 RNA는 miR-138 발현을 억제한다. miR-138는 세포증식을 억제하는 종양 억제 인자로서 BC200 RNA는 miR-138을 줄이면서 세포증식을 촉진한다.²⁰ 대장암에서 BC200 RNA는 상피간엽이행을 발생시켜 세포주기전환을 활성화함으로써 세포증식을 촉진한다.²¹

2.3.2. 세포사멸

유방암 세포에서 BC200 RNA는 세포사멸 조절인자인 Bcl-x의 이어맞추기(splicing)을 조절함으로써 세포사멸 회피를 일으킨다. Bcl-x 유전자는 이어맞추기 형태에 따라 Bcl-xL과 Bcl-xS의 2가지 동형단백질이 존재한다. Bcl-xL은 세포사멸을 촉진하는 인자이고 Bcl-xS는 세포사멸을 회피하는 인자이다. BC200 RNA는 Bcl-xS 형태의 이어맞추기를 유도하여 세포사멸 회피를 활성화시킴으로써 암세포 발달에 기여한다.²²

2.3.3. 전이

자궁경부암세포에서 BC200 RNA는 세포의 이동성을 촉진시킨다. BC200 RNA는 세포

이동 촉진 인자 S100A11의 mRNA을 안정화시킴으로써 세포의 전이성을 향상시킨다.²³ 대장암에서 BC200 RNA는 상피간엽이행을 유도함으로써 세포의 전이성을 촉진시킨다.²¹

3. 신약 타겟 ncRNA

ncRNA가 암세포 발달에 기여하는 다양한 사례가 보고되어 오면서 새로운 신약 타겟 후보군으로 주목 받고 있다. 지금까지 항암제 타겟 후보군으로 연구되어온 주요 ncRNA는 다음과 같다.

3.1. HOTAIR

HOTAIR(HOX antisense intergenic RNA)는 초기 발달과정에서 후성유전학 조절인자로 작용한다. 발달과정이 끝난 정상세포에서는 발현이 억제되어 있지만 암세포에서 비정상적인 발현을 보인다. HOTAIR는 세포의 비정상적인 증식을 초래하고 세포의 전이성을 증가시킨다.²⁴ HOTAIR의 활성을 siRNA, ASO(Antisense oligo-nucleotide), 등의 물질로 억제하는 연구가 진행되고 있다.²⁵

3.2. MALAT1

초기 MALAT1(Metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1) RNA는 전이성이 높은 폐암에서 과발현되는 것이 확인되었다. 이후 유방암, 자궁경부암, 간암, 대장암등 다양한 조직의 발암과정에서 발암유전자로 작용하는 것이 확인되었다.²⁶ MALAT1이 녹다운되면 세포의 전이성이 뚜렷하게 감소되므로 신약 타겟으로 다양한 연구가 진행되고 있다. MALAT1을 타겟으로 하여 siRNA, 변형된 반의미 올리고뉴클레오티드 (antiosense oligonucleotide, ASO), 저분자화합물 등 다양한 형태의 치료제 개발이 진행되고 있다.²⁷

3.3. LUNAR1

LUNAR1(Leukemia-induced non-coding activating RNA1) 유전자는 *IGFR1* (Insulin-like growth factor receptor 1) 유전자 근처에 위치한다. LUNAR1 RNA는 *IGFR1* 증진유전자(enhancer)와 결합하여 프로모터를 활성화시킴으로써 세포 증식을 촉진한다. LUNAR1 RNA의 녹다운으로 혈액세포의 증식이 억제되는 것이 확인되었다.²⁸

3.4. ANRIL

염색체 9p21에 위치하는 *INK4B-ARF-IFN4A* 유전자군은 대표적인 암 억제 유전자군이다. 이 위치에서 반의미(antisense)로 발현되는 ANRIL(Antisense noncoding RNA in the Ink4 locus)은 PRC1(polycomb repressive complex 1)을 *INK4B-ARF-IFN4A* 유전자군으로 유도하여 후성유전학적인 발현 억제를 일으킨다.

췌장암, 유방암, 폐암, 방광암, 간암 등의 발병과 연관되어 있다. ANRIL을 antagoNAT(단일가닥 전사체 불활성화를 유도하는 단일 가닥 변형 DNA 또는 RNA)로 억제하여 암 형성을 억제하는 연구가 진행 중이다.^{29,30}

4. 고찰

최근 암세포 내 BC200 RNA의 기능을 밝히는 연구가 활발하게 진행 중이다. 많은 연구들이 siRNA를 통하여 BC200 RNA 발현을 억제하여 암세포의 표현형 저하를 확인하는 방식으로 진행되고 있다. siRNA는 세포내 기전연구를 위해서는 적합하지만 안정성과 효용성 측면에서 직접적인 약제화가 힘들다. 이러한 단점을 극복하기 위해 siRNA의 타겟 특이적인 상보결합은 유지하되 구조의 안정성을 향상시킨 변형 올리고 뉴클레오티드들이 개발되어 활용되고 있다. ASO, AntagoNAT 등이 이에 해당한다. 최근에는 불활성화시킨 Cas9와 gRNA를 활용하여 CRISPR 시스템으로 특정 유전자를 타겟하여 ncRNA의 전사를 억제하는 기술도 도입되고 있다(CRISPRi).³¹ 항암제 타겟 ncRNA 연구들에서는 위와 같이 약제화가 용이한 방법으로 녀다운을 하고, 이에 따른 암세포의 표현형 변화를 확인하고 있다. 향후 BC200 RNA가 신약 타겟 물질로써 활용되기 위해서는 siRNA 외의 다양한 방식으로 RNA 발현을 조절하여 효과를 확인하는 시도가 필요하다.

5. 참고문헌

- 1) Lander, E. S. et al. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409, 860-921.
- 2) The ENCODE Project Consortium (2004) The ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) project. *Science* 306, 636-640.
- 3) Lee, R. C., Feinbaum, R. L., and Ambros, V. (1993) The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 75, 843-854.
- 4) Arun, G., Diermeier, S. D., and Spector, D. L. (2018) Therapeutic targeting of long non-coding RNAs in cancer. *Trends Mol. Med.* 24, 257-277.
- 5) Tiedge, H., Chen, W., and Brosius, J. (1993) Primary structure, neural-specific expression, and dendritic location of human BC200 RNA. *J Neurosci* 13, 2382-2390.
- 6) Chen, W., Bocker, W., Brosius, J., and Tiedge, H. (1997) Expression of neural BC200 RNA in human tumours. *J. Pathol.* 183, 345-351.
- 7) Sutcliffe, J. G., Milner, R. J., Gottesfeld, J. M., and Lerner, R. A. (1984) Identifier sequences are transcribed specifically in brain. *Nature* 308, 237-241.
- 8) Watson, J. B. and Sutcliffe, J. G. (1987) Primate brain-specific cytoplasmic transcript of the Alu repeat family. *Mol. Cell. Biol.* 7, 3324-3327.
- 9) Lin, D., Pestova, T. V., Hellen, C. U., and Tiedge, H. (2008) Translational control by a small RNA: dendritic BC1 RNA targets the eukaryotic initiation factor 4A helicase mechanism. *Mol. Cell. Biol.* 28, 3008-3019.
- 10) Eom, T., Berardi, V., Zhong, J., Risuleo, G., and Tiedge, H. (2011) Dual nature of translational control by regulatory BC RNAs. *Mol. Cell. Biol.* 31, 4538-4549.
- 11) Kondrashov, A. V., Kiefmann, M., Ebnet, K., Khanam, T., Muddashetty, R. S., and Brosius, J. (2005) Inhibitory effect of naked neural BC1 RNA or BC200 RNA on eukaryotic in vitro translation systems is reversed by poly(A)-binding protein (PABP). *J. Mol. Biol.* 353, 88-103.
- 12) Muslimov, I. A., Patel, M. V., Rose, A., and Tiedge, H. (2011) Spatial code recognition in neuronal RNA targeting: role of RNA-hnRNP A2 interactions. *J. Cell. Biol.* 194, 441-457.
- 13) Jang, S., Shin, H., Lee, J., Kim, Y., Bak, G., and Lee, Y. (2017) Regulation of BC200 RNA-mediated translation inhibition by hnRNP E1 and E2. *FEBS Lett.* 591, 393-405.
- 14) Zalfa, F., Adinolfi, S., Napoli, I., Kühn-Hölsken, E., Urlaub, H., Achsel, T., Pastore, A., and Bagni, C (2005) Fragile X mental retardation protein (FMRP) binds specifically to the brain cytoplasmic RNAs BC1/BC200 via a novel RNA-binding motif. *J. Biol. Chem.* 280, 33403-33410.
- 15) Duning, K., Buck, F., Barnekow, A., and Kremerskothen, J. (2008) SYNCRIP, a component of dendritically localized mRNPs, binds to the translation regulator BC200 RNA. *Journal of neurochemistry* 105, 351-359. (2008).

- 16) Booy, E. P., McRae, E. K. S., Howard, R., Deo, S. R., Ariyo, E. O., Džananović, E., Meier, M., Stetefeld, J., and McKenna, S. A. (2016) RNA helicase associated with AU-rich element (RHAU/DHX36) interacts with the 3'-tail of the long non-coding RNA BC200 (BCYRN1). *J. Biol. Chem.* 291, 5355-5372.
- 17) Iacoangeli, A., Lin, Y., Morley, E. J., Muslimov, I. A., Bianchi, R., Reilly, J., Weedon, J., Diallo, R., Böcker, W., Tiedge, H. (2014) BC200 RNA in invasive and preinvasive breast cancer. *Carcinogenesis* 25, 2125-2133.
- 18) Kim, Y., Lee, J., Shin, H., Jang, S., Kim, S. C., and Lee, Y. (2017) Biosynthesis of brain cytoplasmic 200 RNA. *Sci. Rep.* 7, 6884.
- 19) Hu, T. and Lu, Y. R. (2015) BCYRN1, a c-MYC-activated long non-coding RNA, regulates cell metastasis of non-small-cell lung cancer. *Cancer Cell Int.* 15, 36.
- 20) Peng, J., Hou, F., Feng, J., Xu, S. X., and Meng, X. Y. (2018) Long non-coding RNA BCYRN1 promotes the proliferation and metastasis of cervical cancer via targeting microRNA-138 in vitro and in vivo. *Oncol. Lett.* 15, 5809-5818.
- 21) Wu, K., Xu, K., Liu, K., Huang, J., Chen, J., Zhang, J., Zhang, N. (2018) Long noncoding RNA BC200 regulates cell growth and invasion in colon cancer. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* doi:10.1016/j.biocel.2018.04.001.
- 22) Singh, R., Gupta, S. C., Peng, W. X., Zhou, N., Pochampally, R., Atfi, A., Watabe, K., Lu, W., Mo, Y. Y. (2016) Regulation of alternative splicing of Bcl-x by BC200 contributes to breast cancer pathogenesis. *Cell Death Dis.* 7, e2262.
- 23) Shin, H., Lee, J., Kim, Y., Jang, S., Lee, Y., Kim, S., and Lee, Y. (2017) Knockdown of BC200 RNA expression reduces cell migration and invasion by destabilizing mRNA for calcium-binding protein S100A11. *RNA Biol.* 14, 1418-1430.
- 24) Gupta, R. A., Shah, N., Wang, K. C., Kim, J., Horlings, H. M., Wong, D. J., Tsai, M. C., Hung, T., Argani, P., Rinn, J. L., Wang, Y., Brzoska, P., Kong, B., Li, R., West, R. B., van de Vijver, M. J., Sukumar, S., and Chang, H. Y. (2010) Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 464, 1071-1076.
- 25) Endo, H., Shiroki, T., Nakagawa, T., Yokoyama, M., Tamai, K., Yamanami, H., Fujiya, T., Sato, I., Yamaguchi, K., Tanaka, N., Iijima, K., Shimosegawa, T., Sugamura, K., and Satoh, K. (2013) Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer. *PloS One* 8, e77070.
- 26) Gutschner, T., Hämmerle, M., Eißmann, M., Hsu, J., Kim, Y., Hung, G., Revenko, A., Arun, G., Stenrup, M., Groß, M., Zörnig, M., MacLeod, A. R., Spector, D. L., and Diederichs, S. (2013) The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. *Cancer Res.* 73, 1180-1189.
- 27) Amodio, N., Stamato, M. A., Juli, G., Morelli, E., Fulciniti, M., Manzoni, M., Taiana, E., Agnelli, L., Cantafio, M. E. G., Romeo, E., Raimondi, L., Caracciolo,

- D., Zuccalà, V., Rossi, M., Neri, A., Munshi, N. C., Tagliaferri, P., and Tassone, P. (2018) Drugging the lncRNA MALAT1 via LNA gapmeR ASO inhibits gene expression of proteasome subunits and triggers anti-multiple myeloma activity. *Leukemia* doi:10.1038/s41375-018-0067-3.
- 28) Trimarchi, T., Bilal, E., Ntziachristos, P., Fabbri, G., Dalla-Favera, R., Tsirigos, A., Aifantis, I. (2014) Genome-wide mapping and characterization of Notch-regulated long noncoding RNAs in acute leukemia. *Cell* 158, 593-606.
- 29) Yap, K. L., Li, S., Muñoz-Cabello, A. M., Raguz, S., Zeng, L. Mujtaba, S., Gil, J., Walsh, M. J., and Zhou, M. M. (2010) Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol. Cell* 38, 662-674.
- 30) Modarresi, F., Faghihi, M. A., Lopez-Toledano, M. A., Fatemi, R. P., Magistri, M., Brothers, S. P., van der Brug, M. P., and Wahlestedt, C. (2012) Inhibition of natural antisense transcripts in vivo results in gene-specific transcriptional upregulation. *Nature Biotechnol.* 30, 453-459.
- 31) Larson, M. H., Gilbert, L. A., Wang, X., Lim, W. A., Weissman, J. S., and Qi, L. S. (2013) CRISPR interference (CRISPRi) for sequence-specific control of gene expression. *Nat. Proto.* 8, 2180-2196.