위암에서 Long Non-coding RNA의 적용

이상길

연세대학교 의과대학 내과학교실

Application of Long Non-coding RNAs in Gastric Cancer

Sang Kil Lee

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Gastric cancer remains a big problem in terms of incidence or mortality; various mechanisms to explain its development and progression have been studied. Recently, long non-coding RNAs (lncRNAs) have been spotlighted in the epigenetic mechanism of cancer development. Although lncRNAs have been consistently reported to be involved in the development and progression of various cancers, there is still a lot more to be studied about them. In this article, we would like to introduce lncRNAs related to gastric cancer in order to encourage gastroenterologists to study them. (*Korean J Helicobacter Up Gastrointest Res* 2018;18:174-179)

Key Words: Neoplasms; Non-coding RNA; Stomach

서론

위암의 원인과 발생기전에 대한 많은 연구가 있었지만, 아직 까지도 주요한 기전 외에 설명되지 않는 부분들이 많다. 최근 들어서 The Cancer Genome Atlas (TCGA) 프로젝트에 의한 결과로 위암을 분류하는 방법이 소개되었고,¹ 이를 통해서 위암의 분자유전학적 특징을 임상에 활용할 수 있는 방법에 좀 더 근접할 수 있는 기반이 마련되었다. 이후로 위암의 발생에 관여하는 분자유전학적 기전에 대한 연구가 좀 더 임상적으로 사용될 수 있는 근거가 되었다.

암 발생은 대부분 유전학적 변이와 관련이 있는 것으로 알려져 있으나, 인간 게놈에서 단백질을 형성하는 유전자는 전체 게놈에서 약 2% 정도밖에 되지 않는다. 이에 비해서 단백질을 형성하지 않는 non-coding RNA는 인간 게놈의 약 70~80%를 차지하면서 생물학적으로도 중요한 역할을 한다는 것이 알려졌다.² 또한 비번역 RNA의 변이나 과발현이 암을 비롯한 다양한 인간 질환의 발생에 관여함이 알려졌다. 이 중에서 long non-coding RNAs (lncRNAs)는 광범위한 질환의 발생에 관여하는

것으로 보고되었고, 그 작용기전이 매우 다양한 것으로 알려져 있다. 이러한 다양성 등으로 인하여 임상 의사가 lncRNA를 정확히 이해하고 연구하기에는 많은 어려움이 있다. 저자는 본 리뷰에서, 상부위장관을 다루는 임상 의사가 lncRNAs의 기본적인 개념과 위암의 발생에 관여하는 기전을 이해하는데 도움이 될 수 있는 내용 위주로 작성하였다.

본론

1. lncRNAs의 기본적인 특징

1) 게놈 위치에 따른 분류와 의미

비번역 RNA는 단백질을 생성하지 않는 RNA를 통틀어서 지칭한다. 이 중에서 크기가 200 nt 이상인 것을 lncRNAs라고 한다. 현재까지 ENCODE 프로젝트(ENCODE v26)는 인간에 약 16,000개의 lncRNAs가 보존되어 있으며 28,000개 이상의 전사체가 존재할 것으로 보고하고 있다. 이를 토대로 볼 때에 기능을 가지는 새로운 lncRNAs는 앞으로도 계속 발견될 것이다.

크기를 바탕으로 비번역 RNA를 나누는 방법을 적용하면, non-coding RNA는 microRNA (miRNA)를 포함하는 200 nt 이하 크기의 short non-coding RNA와 200 nt 이상의 lncRNAs로 분류된다. lncRNAs는 miRNAs와는 달리 생성과 프로세싱 과정이 잘 알려져 있지 않다. lncRNAs는 한 가지의 경로를 통해서 생성 및 활성화가 되는 miRNAs와 다르게 다양한 경로를 통해서 활성화될 것으로 생각되고 있다.^{2,3}

Received: June 14, 2018 Revised: July 30, 2018 Accepted: July 31, 2018

Corresponding author: Sang Kil Lee
Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea
Tel: +82-2-2228-1070, Fax: +82-2-393-7681, E-mail: sklee@yuhs.ac
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0721-0364>

This research was supported by the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea funded by Korea government (Ministry of Science and ICT [No. NRF-2017R1A2B4A006316]).

lncRNAs를 분류하는 방법은 여러 가지이고, 이 중 대표적인 것이 세포 내 생성 및 활동 위치(핵내, 세포질내, 양쪽 모두), 게놈 내의 위치, 기전에 따른 분류이다. 가장 대표적인 것은 게놈 위치에 따른 분류이고 5가지로 나누어진다. (1) sense lncRNAs는 알려진 단백질형성 유전자의 strand의 sense 방향으로 중첩되는 위치에서 발현하는 lncRNAs이고 (2) antisense lncRNAs는 알려진 단백질형성 유전자의 strand의 anti-sense 방향으로 중첩되는 위치에서 발현하는 lncRNAs이다. (3) bidirectional lncRNAs는 알려진 단백질형성 유전자의 프로모터 부위에서 반대로 전사되는 lncRNAs이고 (4) intergenic lncRNAs는 알려진 어떤 단백질형성 유전자와도 연관되지 않은 intergenic area에 위치한 lncRNAs이며 (5) intronic lncRNAs는 알려진 단백질형성 유전자의 엑손(exon)부위가 아닌 인트론(intron)에 있는 어떤 방향으로도 전사되는 lncRNAs로 분류된다.⁴ 이렇게 lncRNAs를 분류하는 것은 lncRNAs의 기전이나 연구에 도움을 주기 때문인데, 예를 들어 sense lncRNAs나 antisense lncRNAs는 필연적으로 호스트인 단백질형성 유전자의 염기서열과 유사성을 갖기 때문에 연구 시 이에 대한 고려가 필요하다. Bidirectional lncRNAs도 마찬가지로 인근 단백질형성 유전자의 프로모터에 연관을 갖기 때문에 작용기전에 있어서 연관성을 가질 수 있다. Intergenic lncRNAs는 근처에 존재하는 단백질형성 유전자와는 연관성이 없는 것이 많고, intronic lncRNAs는 호스트 단백질형성 유전자와 연관성을 가질 가능성이 있다. 실제로 어떤 lncRNAs를 연구하고자 할 때에는 현재까지 알려진 다양한 분류법에 의해 연구하고자 하는 lncRNAs가 어떤 부류로 분류되는지를 미리 확인하는데, 이는 이런 분류에 따라서 lncRNAs의 기전을 예측할 수도 있기 때문이다.

2) 기능

lncRNAs의 기능은 매우 다양하여 생명 현상 거의 모두에 관여한다고 봐도 무관하다. 특히 lncRNA는 길이가 길고 다양한 결합 능력과 motif를 가지고 있기 때문에 다른 RNA, DNA, 단

백과 결합하려는 경향이 매우 높고, 이를 통해서 다른 여러 물질들과 결합하여 활성을 조절하는 경우가 많다.

그 기전들 중에 가장 많이 연구되고 보고된 것은, 크로마틴 조절 효소(chromatin-modifying enzymes)와의 연관 작용을 통한 경로이다. 크로마틴 조절 효소는 히스톤이나 크로마틴의 DNA의 공유결합 변화를 촉매하여 유전자 발현을 조절하게 된다. LncRNAs는 polycomb repressive complex,⁵ myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia/trithorax group complex, lysine-specific histone demethylase 1A,⁶ DNA methyltransferase (DNMT),^{1,7} growth arrest and DNA-damage-inducible protein 45a⁸를 비롯한 많은 히스톤이나 DNA 조절효소의 발현을 조절하는 것으로 밝혀졌다. 본 연구자의 연구에서도 식도암의 발현에 관여하는 lung cancer associated transcript 1 (LUCAT1)은 다양한 식도암세포에서 식도암의 발생을 억제하는 종양억제유전자(tumor suppressor gene)의 발현을 억제하였다.⁷ LUCAT1은 특이적으로 종양억제유전자의 메틸화를 조정하여 암 발생 가능성을 높이는 방향으로 작용하였고, 추가 실험에서 LUCAT1이 유전자 메틸화 조절의 중심 요소인 DNMT1의 ubiquitination을 조절하여 종양억제유전자의 메틸화에 의한 불활성화를 조정하는 것을 발견하였다(Fig. 1).⁷

lncRNAs는 DNA나 히스톤의 공유결합 변화를 통한 변화뿐만 아니라, 뉴클레오솜의 성분이나 위치를 변화시키는 방법을 통해서도 유전자 발현을 변화시킨다. 한 연구에 의하면 Myheart lncRNA는 Brg1의 크로마틴 내의 기능을 억제하는 것으로 알려졌다며, 이를 통해서 뉴클레오솜의 성분에 영향을 미치는 것으로 보고되었다.⁹

lncRNA의 작용기전 중에서 비교적 초기에 알려진 것으로는 생명조절현상이 알려진 miRNA와의 결합을 통한 기전이다. 본 연구자의 연구에서도 N-BLR lncRNA가 대장암의 전이, 침윤을 조절하는 mir-200 family에 대한 스폰지작용을 하는 것을 보고하였다.¹⁰ 대장암에서 N-BLR의 발현은 의미 있게 증가되어

Fig. 1. LUCAT1 regulated the expression of tumor-suppressor genes by modulating DNMT1 expression. (A) Effects of LUCAT1 on the stability of DNMT1 and the expression of tumor-suppressor genes. (B) Effects of LUCAT1 on ubiquitination of DNMT1. Data from the article of Yoon, et al. *Cancer Lett* 2018;417:47-57, with permission.⁷

있었고, 증가된 N-BLR은 mir-200 family의 활성화를 저하시켜 대장암을 진행시켰다.¹⁰ 최근에는 heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNPs)를 비롯한 RNA결합 단백질과의 결합을 통한 작용기전이 알려지고 있다.¹¹ 예를 들면 lnc13 lncRNA의 locus에는 정상인보다 celiac disease에서 많은 single-nucleotide polymorphisms (SNP)이 관찰되었고, 이에 근거한 연구에서 lnc13이 hnRNP와 결합을 하여 정상인에서 항염증작용을 가지고 있음을 밝혀내었다. 그러나 celiac disease가 있는 환자에서는 SNP에 의해서 lnc13과 hnRNP의 변형된 결합이 초래되어 질환이 발생하는 것으로 보고되었다.¹¹ 이는

소화기질환에서 lncRNAs의 SNP를 통해서 질환이 발생함을 보여준 의미 있는 연구이고, 앞으로도 원인이 명확하지 않은 질환에도 적용될 수 있음을 보여주고 있다.

이외에도 lncRNA는 많은 단백을 조절할 수 있는데, 이 중 대표적인 것이 전사인자(transcription factor)이다. 이들 중에서 RNA 및 DNA에 모두 결합할 수 있는 DNA-and RNA binding proteins이 최근에 주목을 받고 있고, lncRNA를 비롯한 다양한 RNA에 결합하는 기능에 대한 연구가 진행되고 있다.¹² lncRNA의 기전에 따른 분류를 Table 1^{10,13-45}에 정리하였다.

Table 1. The Action Mechanisms of LncRNA

LncRNAs	Function	Reference
LncRNAs interacting with chromatin complexes		
Fendrr	Differentiation of tissues derived from lateral mesoderm	14
HOTTIP	Homeotic gene activation at the homeobox (HOX)A locus	15
DBE-T	Epigenetic regulation of the facioscapulohumeral muscular dystrophy gene	16
Kcnq1ot1	Lineage-specific imprinting at the Kcnq1 locus	17
pRNA	CpG methylation of ribosomal RNA genes	18
Morrbid	Survival control of myeloid cells	19
Linc-Pint	Epigenetic regulation of p53 response	20
Chaer	Epigenetic regulator in the development of cardiac hypertrophy	21
PINC	Pregnancy-induced, regulates mammary epithelial differentiation	22
HOTAIR	Silencing of the HOXD locus	13
Braveheart	Activation of cardiovascular progenitor	23
ANRIL	Transcriptional silencing to control cellular senescence	24
LncRNAs as modulators of proteins and enzyme cofactors		
NKILA	NF- κ B inactivation by inhibition of I κ B phosphorylation	25
lnc-DC	Regulate genes involved in dendritic cell differentiation	26
ncRNA-a	Enhancer-like functions on the neighbouring genes	27
CONCR	Involved in DNA replication and sister-chromatid cohesion	28
Lethe	Prevents DNA binding of the RelA subunit of NF- κ B	29
LncRNAs binding DNA/RNA-binding proteins		
linc-YY1	YY1-mediated regulation of myogenesis	30
RMST	Sex determining region Y-box 2-mediated regulation of pluripotency and neuronal differentiation	31
GAS5	Regulation of the glucocorticoid response	32
DINO	Regulation of the DNA-damage-induced p53 response	33
linc-p21	Repressor in p53-dependent transcriptional response	34
SAMMSON	Regulation of mitochondrial	35
LUNAR1	Enhancing of insulin-like growth factor 1 signalling	36
LncRNAs forming R-loops and triple helices		
TERRA	Maintenance of the telomeric structure	37
VIM-AS1	Promotion of transcriptional activation of the vimentin gene	38
COOLAIR	Negative regulation of flowering locus C expression and flowering	39
Khps1	Transcriptional activation of sphingosine kinase 1	40
MEG3	Transcriptional regulation of genes of the transforming growth factor- β pathway	41
LncRNAs in higher-order structures		
Xist	X chromosome inactivation	42
Firre	Role in adipogenesis; mediates inter-chromosomal interactions	43
NEAT1	Nucleation of paraspeckles	44
MALAT1	Formation of nuclear speckles	45
LncRNAs acting as miR sponge		
N-BLR	Sponge to miR-200 family	10

2. 위암에서의 lncRNAs

앞서 기술한 lncRNA에 대한 연구가 위암에서도 시도가 되었고, 그 결과들이 다양한 논문에 게재되었다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 위암에서 lncRNA에 대한 연구 보고는 2012년부터 시작되었고, 2015년부터 급속히 늘어나고 있다. 연구자의 분포로 보면 한국, 중국, 일본을 포함한 아시아 지역의 연구자가 많고, 이 중에서 중국의 연구자가 대부분을 차지하고 있다.

이런 연구결과들은 위암과 정상 세포나 조직을 microarray나 RNA sequencing을 이용해서 분석하여 이상발현을 보이는 lncRNA를 찾아내는 연구방법을 이용하거나, 혹은 다른 암에서 발현이상을 보인 lncRNA를 위암에서 검증하는 방식으로 진행되었다. 2012년 H19 lncRNA가 위암 발생에 관여한다는 연구가 보고되었고,⁴⁶ 이 연구에서 H19의 이상발현은 세포 증식을 증가시키고, p53의 불활성화를 유도하였다. HOX transcript antisense intergenic RNA (HOTAIR)는 유방암에서 전이를 촉진시키는 역할을 하는 lncRNA로 보고가 되었다.¹³ 그 이후로 많은 암에서 암 전이나 암 발생에 관여하는 것이 추가적으로 밝혀졌다. 본 연구자의 연구에서도 HOTAIR의 이상발현 증가는 위암세포의 증식을 증가시키고, apoptosis를 억제하였다.⁴⁷ 최근에는 TUSC7, MEG3, MALAT-1 등의 lncRNA가 위암의 증식, apoptosis, 침윤, 전이 등에 관여함이 보고되었다.⁴⁸⁻⁵⁰ 위암에 관여하는 lncRNA의 기전은 다양하기 때문에, 앞서 언급한 lncRNA의 밝혀진 기전이나 예상 기전이 모두 가능할 것으로 판단이 된다.

최근에는 lncRNA를 위암 진단이나 예측을 위한 바이오마커로 활용한 연구가 보고되고 있다.⁵¹ 이 중 혈액을 이용한 연구가 대다수이며, 최근의 연구에서는 비록 area under the curve

(AUC) 값이 만족스럽지는 않지만, 세 개의 다른 lncRNA를 이용하였을 때에 AUC가 0.764로 기존의 바이오마커인 CEA, CA19-9보다 우세한 결과를 보였다.⁵¹

결론

lncRNA는 다양한 암 발생의 기전에 관여하고 있다. 특히 lncRNA는 후성적(epigenetic) 기전에 관여함이 밝혀지고 있다. 위암의 발생에서 후성적 기전이 차지하는 비중이 크다는 점을 고려하면 위암에서 lncRNA의 영향은 적지 않을 것으로 추측된다. 위암에서 lncRNA에 관한 연구의 대부분은 다양한 lncRNA가 위암의 발생기전에 관여하고, 실제 환자의 조직에서 발현이 위암의 임상경과와 연관이 있다는 것들이다. 최근에 혈액에서의 lncRNA 발현이 측정가능하고, 임상경과와 연관된다는 보고가 조금씩 나오고 있으나 기대한 속도만큼 빠르지는 않다. 이를 종합해 볼 때에, lncRNA는 위암의 발생 기전에는 다양한 정도로 관여하나, 이를 임상에서 적용할 수 있는 방법에 있어서는 아직도 제한적임을 알 수 있다.

lncRNA 연구의 대부분이 진행된 위암의 예후를 예측하거나, 그 기전을 보는 것에 집중이 되어있어 소화기내과 의사와 연구자들이 관심이 있는 조기 진단이나 발병 모델에 대해서는 연구가 매우 부족한 상황이다. 이를 고려할 때에 lncRNA를 이용해서 소화기내과 영역 질환의 미충족 수요를 해결해나가기 위한 연구가 필요한 상황이라고 말할 수 있다. 이를 위해서는 소화기 연관 질환을 다루는 학회에서 주도적으로 연구 진작을 위한 투자와 교육이 필요할 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014;513:202-209.
2. Bhan A, Soleimani M, Mandal SS. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm. *Cancer Res* 2017;77:3965-3981.
3. Xiao H, Zhang F, Zou Y, Li J, Liu Y, Huang W. The function and mechanism of long non-coding RNA-ATB in cancers. *Front Physiol* 2018;9:321.
4. Han D, Wang M, Ma N, Xu Y, Jiang Y, Gao X. Long noncoding RNAs: novel players in colorectal cancer. *Cancer Lett* 2015; 361:13-21.
5. Wang KC, Yang YW, Liu B, et al. A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Nature* 2011;472:120-124.
6. Maenner S, Müller M, Fröhlich J, Langer D, Becker PB. ATP-dependent roX RNA remodeling by the helicase maleless enables specific association of MSL proteins. *Mol Cell* 2013;51:174-184.

Fig. 2. Yearly status of lncRNA-related articles in gastric cancer retrieved from Pubmed.

7. Yoon JH, You BH, Park CH, Kim YJ, Nam JW, Lee SK. The long noncoding RNA LUCAT1 promotes tumorigenesis by controlling ubiquitination and stability of DNA methyltransferase 1 in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2018;417:47-57.
8. Arab K, Park YJ, Lindroth AM, et al. Long noncoding RNA TARID directs demethylation and activation of the tumor suppressor TCF21 via GADD45A. *Mol Cell* 2014;55:604-614.
9. Hang CT, Yang J, Han P, et al. Chromatin regulation by Brg1 underlies heart muscle development and disease. *Nature* 2010;466:62-67.
10. Rigoutsos I, Lee SK, Nam SY, et al. N-BLR, a primate-specific non-coding transcript leads to colorectal cancer invasion and migration. *Genome Biol* 2017;18:98.
11. Castellanos-Rubio A, Fernandez-Jimenez N, Kratchmarov R, et al. A long noncoding RNA associated with susceptibility to celiac disease. *Science* 2016;352:91-95.
12. Hudson WH, Ortlund EA. The structure, function and evolution of proteins that bind DNA and RNA. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15:749-760.
13. Yang F, Bi J, Xue X, et al. Up-regulated long non-coding RNA H19 contributes to proliferation of gastric cancer cells. *FEBS J* 2012;279:3159-3165.
14. Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010;464:1071-1076.
15. Lee NK, Lee JH, Park CH, et al. Long non-coding RNA HOTAIR promotes carcinogenesis and invasion of gastric adenocarcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2014;451:171-178.
16. Lee NK, Lee JH, Ivan C, et al. MALAT1 promoted invasiveness of gastric adenocarcinoma. *BMC Cancer* 2017;17:46.
17. Yan J, Guo X, Xia J, et al. MiR-148a regulates MEG3 in gastric cancer by targeting DNA methyltransferase 1. *Med Oncol* 2014;31:879.
18. Qi P, Xu MD, Shen XH, et al. Reciprocal repression between TUSC7 and miR-23b in gastric cancer. *Int J Cancer* 2015;137:1269-1278.
19. Liu J, Wang J, Song Y, et al. A panel consisting of three novel circulating lncRNAs, is it a predictive tool for gastric cancer? *J Cell Mol Med* 2018;22:3605-3613.
20. Grote P, Wittler L, Hendrix D, et al. The tissue-specific lncRNA Fendrr is an essential regulator of heart and body wall development in the mouse. *Dev Cell* 2013;24:206-214.
21. Burgess DJ. Non-coding RNA: HOTTIP goes the distance. *Nat Rev Genet* 2011;12:300.
22. Vizoso M, Esteller M. The activatory long non-coding RNA DBE-T reveals the epigenetic etiology of facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Cell Res* 2012;22:1413-1415.
23. Mohammad F, Mondal T, Guseva N, Pandey GK, Kanduri C. Kcnq1ot1 noncoding RNA mediates transcriptional gene silencing by interacting with Dnmt1. *Development* 2010;137:2493-2499.
24. Schmitz KM, Mayer C, Postepska A, Grummt I. Interaction of noncoding RNA with the rDNA promoter mediates recruitment of DNMT3b and silencing of rRNA genes. *Genes Dev* 2010;24:2264-2269.
25. Kotzin JJ, Spencer SP, McCright SJ, et al. The long non-coding RNA Morrbid regulates Bim and short-lived myeloid cell lifespan. *Nature* 2016;537:239-243.
26. Marín-Béjar O, Mas AM, González J, et al. The human lncRNA LINC-PINT inhibits tumor cell invasion through a highly conserved sequence element. *Genome Biol* 2017;18:202.
27. Wang Z, Zhang XJ, Ji YX, et al. The long noncoding RNA Chaer defines an epigenetic checkpoint in cardiac hypertrophy. *Nat Med* 2016;22:1131-1139.
28. Shore AN, Kabotyanski EB, Roarty K, et al. Pregnancy-induced noncoding RNA (PINC) associates with polycomb repressive complex 2 and regulates mammary epithelial differentiation. *PLoS Genet* 2012;8:e1002840.
29. Klattenhoff CA, Scheuermann JC, Surface LE, et al. Braveheart, a long noncoding RNA required for cardiovascular lineage commitment. *Cell* 2013;152:570-583.
30. Yap KL, Li S, Muñoz-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;38:662-674.
31. Liu B, Sun L, Liu Q, et al. A cytoplasmic NF- κ B interacting long noncoding RNA blocks I κ B phosphorylation and suppresses breast cancer metastasis. *Cancer Cell* 2015;27:370-381.
32. Wang P, Xue Y, Han Y, et al. The STAT3-binding long noncoding RNA lnc-DC controls human dendritic cell differentiation. *Science* 2014;344:310-313.
33. Lai F, Orom UA, Cesaroni M, et al. Activating RNAs associate with Mediator to enhance chromatin architecture and transcription. *Nature* 2013;494:497-501.
34. Marchese FP, Grossi E, Marín-Béjar O, et al. A long noncoding RNA regulates sister chromatid cohesion. *Mol Cell* 2016;63:397-407.
35. Raponi NA, Qu K, Zhang J, Mikhail M, Laberge RM, Chang HY. A mammalian pseudogene lncRNA at the interface of inflammation and anti-inflammatory therapeutics. *Elife* 2013;2:e00762.
36. Zhou L, Sun K, Zhao Y, et al. Linc-YY1 promotes myogenic differentiation and muscle regeneration through an interaction with the transcription factor YY1. *Nat Commun* 2015;6:10026.
37. Ng SY, Bogu GK, Soh BS, Stanton LW. The long noncoding RNA RMST interacts with SOX2 to regulate neurogenesis. *Mol Cell* 2013;51:349-359.
38. Kino T, Hurt DE, Ichijo T, Nader N, Chrousos GP. Noncoding RNA gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor. *Sci Signal* 2010;3:ra8.
39. Schmitt AM, Garcia JT, Hung T, et al. An inducible long non-coding RNA amplifies DNA damage signaling. *Nat Genet* 2016;48:1370-1376.
40. Groff AF, Sanchez-Gomez DB, Soruco MML, et al. In vivo characterization of linc-p21 reveals functional cis-regulatory DNA elements. *Cell Rep* 2016;16:2178-2186.
41. Leucci E, Vendramin R, Spinazzi M, et al. Melanoma addiction to

- the long non-coding RNA SAMMSON. *Nature* 2016;531:518-522.
42. Trimarchi T, Bilal E, Ntziachristos P, et al. Genome-wide mapping and characterization of Notch-regulated long noncoding RNAs in acute leukemia. *Cell* 2014;158:593-606.
 43. Graf M, Bonetti D, Lockhart A, et al. Telomere length determines TERRA and R-loop regulation through the cell cycle. *Cell* 2017;170:72-85.e14.
 44. Boque-Sastre R, Soler M, Oliveira-Mateos C, et al. Head-to-head antisense transcription and R-loop formation promotes transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112:5785-5790.
 45. Sun Q, Csorba T, Skourti-Stathaki K, Proudfoot NJ, Dean C. R-loop stabilization represses antisense transcription at the Arabidopsis FLC locus. *Science* 2013;340:619-621.
 46. Postepska-Igielska A, Giwojna A, Gasri-Plotnitsky L, et al. LncRNA khps1 regulates expression of the proto-oncogene SPHK1 via triplex-mediated changes in chromatin structure. *Mol Cell* 2015;60:626-636.
 47. Mondal T, Subhash S, Vaid R, et al. MEG3 long noncoding RNA regulates the TGF- β pathway genes through formation of RNA-DNA triplex structures. *Nat Commun* 2015;6:7743.
 48. Engreitz JM, Pandya-Jones A, McDonel P, et al. The Xist lncRNA exploits three-dimensional genome architecture to spread across the X chromosome. *Science* 2013;341:1237973.
 49. Hacisuleyman E, Goff LA, Trapnell C, et al. Topological organization of multichromosomal regions by the long intergenic noncoding RNA Firre. *Nat Struct Mol Biol* 2014;21:198-206.
 50. Sasaki YT, Ideue T, Sano M, Mituyama T, Hirose T. MENepsilon/beta noncoding RNAs are essential for structural integrity of nuclear paraspeckles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:2525-2530.
 51. Tripathi V, Ellis JD, Shen Z, et al. The nuclear-retained non-coding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol Cell* 2010;39:925-938.