

# 非编码RNA调控上皮间充质化及肿瘤 干细胞的研究进展

杨琼<sup>1,2</sup> 李永君<sup>1</sup> 方向东<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>中国科学院北京基因组研究所, 中国科学院基因组科学与信息重点实验室, 北京 100101;

<sup>2</sup>中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要** 肿瘤干细胞是具有自我更新能力并能发展成为不同分化程度的肿瘤的一类细胞, 它的存在是肿瘤转移和复发的重要原因。最新研究表明, 肿瘤干细胞可通过肿瘤细胞的上皮-间充质化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)产生。作为研究细胞调控的热点——非编码RNA, 通过调控EMT可能会促使肿瘤细胞获得肿瘤干细胞特征。该文主要综述了近年来非编码RNA调控肿瘤细胞EMT以及干性获得的研究进展, 以有助于理解肿瘤中非编码RNA的调控机制和功能。

**关键词** 上皮间充质化; 非编码RNA; 肿瘤干细胞

## Advances of Non-coding RNAs Regulation in Epithelial-mesenchymal Transition and Cancer Stem Cells

Yang Qiong<sup>1,2</sup>, Li Yongjun<sup>1</sup>, Fang Xiangdong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Chinese Academy of Sciences Key Laboratory of Genome Sciences and Information, Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; <sup>2</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract** Cancer stem cells (CSCs), possessing self-renewal properties and the capacity to differentiate into the heterogeneous cancer populations, play an important role in tumor metastasis and relapse. It is reported that cancer stem cells can be generated when cancer cells go through epithelial-mesenchymal transition (EMT). Non-coding RNAs (ncRNAs), as key regulators of gene expression, could contribute to the acquisition of stem cell trait by regulating EMT process. This review focused on current understanding of the regulation mechanisms of EMT in CSCs formation and the role of ncRNAs in EMT control.

**Key words** epithelial-mesenchymal transition; non-coding RNA; cancer stem cells

肿瘤是威胁人类健康的重大疾病, 虽然目前临床治疗手段和可用药物越来越多, 但仍然存在肿瘤复发、转移等问题, 是最难以治愈的疾病之一。近年来, 人们相继在白血病和多种实体肿瘤中发现肿瘤干细胞的存在<sup>[1-2]</sup>, 肿瘤干细胞是存在于肿瘤组织

中一小部分具有干细胞性质的细胞, 具有自我更新以及分化能力, 能形成异质性的肿瘤组织<sup>[3]</sup>, 甚至关系着肿瘤的恶化、转移以及抗药性, 因此被认为是导致肿瘤复发的根源。一般认为, 肿瘤干细胞有两个主要来源: (1)正常干细胞突变积累; (2)分化细胞

收稿日期: 2014-04-28 接受日期: 2014-06-17

中国科学院干细胞与再生医学研究战略性科技先导专项(批准号: XDA01040405)、国家“十二五”科技支撑计划(批准号: 2013BAI01B09)、高技术研究发展计划(863计划)主题项目(批准号: 2012AA022502)和国家自然科学基金(批准号: 31471236)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 010-84097495, Fax: 010-84097485, E-mail: fangxd@big.ac.cn

Received: April 28, 2014 Accepted: June 17, 2014

This work was supported by the “Strategic Priority Research Program” of the Chinese Academy of Sciences (Grant No.XDA01040405), the National “Twelfth Five-Year” Plan for Science & Technology Support (Grant No.2013BAI01B09), “863 Projects” of Ministry of Science and Technology of PR China (Grant No. 2012AA022502) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31471236)

\*Corresponding author. Tel: +86-10-84097495, Fax: +86-10-84097485, E-mail: fangxd@big.ac.cn

网络出版时间: 2014-10-20 15:46 URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.11.0176.html>

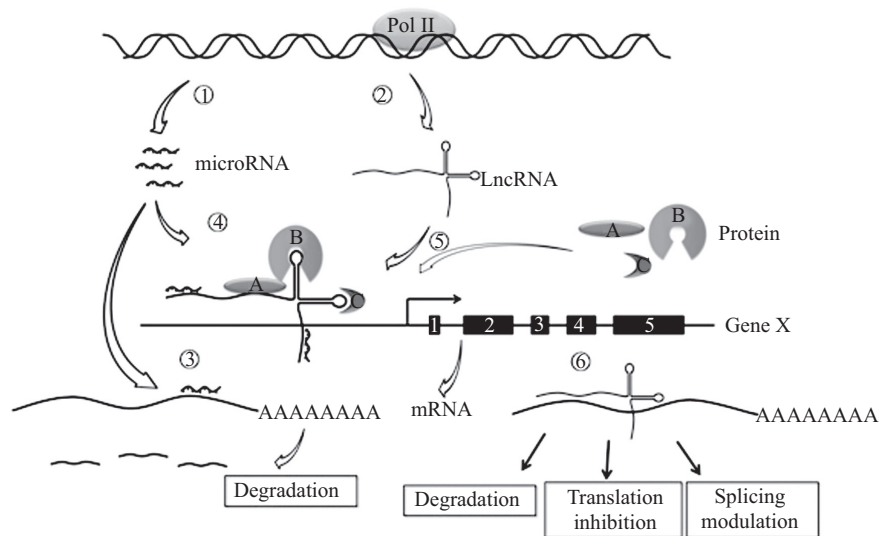
突变导致去分化从而获得干细胞特征<sup>[4]</sup>, 例如, 肿瘤细胞通过上皮-间充质化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)途径获得肿瘤干细胞特性<sup>[5-6]</sup>。研究者们发现, 在大多数肿瘤中都有EMT发生。EMT是一个复杂的细胞学过程, 这个过程中细胞失去细胞间黏附和细胞极性, 运动能力增强, 获得了间质细胞特性。已有研究结果表明, 肿瘤干细胞的产生可能和EMT异常激活相关<sup>[7]</sup>。因此, 研究抗EMT的策略可能会为恶性肿瘤治疗提供新的思路和方法。

非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)是指从基因组中转录出来但不编码蛋白质的RNA, 其中超过95%为持家ncRNA(核糖体RNA和转移RNA等), 其他为调节ncRNA, 一般根据长度可以分为两类: 小非编码RNA(<200 nt, 如microRNA、piRNA等)与长非编码RNA(>200 nt, lncRNA)。在过去几十年里, 研究者逐渐发现了ncRNA在细胞中的调控机制以及功能<sup>[8]</sup>(图1), 尤其是microRNA已经成为研究细胞调控的热点, 研究发现其在包括肿瘤生成、恶化、转移、肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)自我更新及分化等许多生物过程中都起着重要的调控作用<sup>[9]</sup>。最新研究表明, microRNA是EMT复杂调控网络中的重要调节因子, 可能靶向EMT信号通路和下游效应因子中的多个重要组分<sup>[10]</sup>。所以, 深入研究非编码

RNA对EMT以及CSC产生的调控机制, 对于肿瘤治疗中有效靶向CSC具有重要的指导意义。

## 1 细胞上皮-间充质化(EMT)是肿瘤干细胞新的来源

上皮-间充质化(EMT)是一个多因素多步骤高度协调的过程, 伴随着上皮细胞标志物E-钙黏蛋白、 $\alpha$ -和 $\beta$ -链蛋白(catenin)、细胞角蛋白等(负责细胞间黏附和紧密连接的蛋白)表达下降, 相应地, 间质细胞标志物N-钙黏蛋白、波形蛋白、纤连蛋白、基质金属蛋白酶等表达升高, 使细胞发生形态改变并获得浸润迁移能力。EMT是胚胎发育过程中一种重要的生理现象, 与原肠胚形成、神经嵴细胞运动等密切相关。同时, 越来越多的研究也表明, EMT异常激活能促使肿瘤形成、侵袭、扩散转移以及抗药性的获得<sup>[11-14]</sup>。EMT可以参与肿瘤形成过程, 因为它能促进癌变前上皮细胞的增殖<sup>[14]</sup>。而发生EMT的肿瘤细胞获得迁移能力, 可以侵袭基底膜, 进而发生远端转移。另外, 在转移的过程中, EMT使肿瘤细胞从原位瘤扩散出来并促使这些细胞获得自我更新能力, 这样这些细胞就能从微小转移灶增殖扩大形成转移瘤<sup>[15]</sup>。EMT过程的发生最初受到三个转录因子家族Snail1/2、Zeb1/2和Twist1/2的诱导, 这些转



①microRNA与②lncRNA由RNA聚合酶II(Pol II)转录产生; ③成熟的microRNA可以直接与靶mRNA结合, 通过降解mRNA参与基因的转录后调控; lncRNA通过RNA折叠形成空间结构, 可以与④microRNA或者⑤多种蛋白结合, 也可以与⑥靶mRNA直接结合, 降解mRNA抑制翻译。

① microRNAs and ② lncRNAs are usually transcribed by RNA polymerase II (Pol II). ③ The mature microRNAs can regulate target gene expression through directly binding mRNA and leading mRNA degradation. lncRNAs format structural domains by RNA folding. They can interact physically and functionally with ④ microRNAs and ⑤ multiple effector proteins, ⑥ or they can degrade mRNA or inhibit translation by directly binding target mRNA.

图1 真核生物非编码RNA的生物发生与作用机制

Fig.1 Biogenesis and molecular mechanisms of ncRNAs in regulation of eukaryotes

录因子也被证实了能够增强上皮细胞的侵袭能力。TGF- $\beta$ 、Wnt、Notch和Hedgehog(Hh)这些能引起EMT的信号通路,结合其他肿瘤微环境的影响,通过激活Twist1、Twist2、Snail、Slug、Zeb1和Zeb2等EMT转录因子,诱使高度分化的上皮细胞转化为具有运动能力的间充质细胞<sup>[16]</sup>。

肿瘤转移是恶性肿瘤的重要标志,它是一个多步骤的复杂过程,肿瘤细胞通过EMT与原发瘤分离,侵袭基底膜并进入血液循环系统或淋巴系统,在到达身体其他部位后渗出血管,又会通过上皮-间充质化(MET)并增殖形成转移瘤<sup>[17]</sup>。按照肿瘤干细胞理论,只有肿瘤干细胞才能增殖形成肿瘤,所以在转移的肿瘤细胞中应该含有肿瘤干细胞,而确实,2005年Brabletz等<sup>[18]</sup>发现,肿瘤干细胞具有迁移性并首次提出了迁移肿瘤干细胞(migrating cancer stem cell)的概念,这些细胞主要位于肿瘤和正常组织交界处,是由静止的肿瘤干细胞获得短暂EMT表型而产生的。但是,只有极少量的肿瘤干细胞存在于肿瘤组织中,并且转移肿瘤干细胞又是肿瘤干细胞中的少量群体,以此推断,肿瘤转移形成转移灶应该是一个小概率事件,但是事实并非如此。

2008年,Mani等<sup>[6]</sup>发现, Twist1、Snail或TGF- $\beta$ 通过EMT过程可以使非致瘤、永生化的人乳腺上皮细胞(human mammary epithelial cell, HMLE)转化为间质细胞样细胞,并使HER2/neu-infected HMLE(HMLEN)细胞去分化为CD44<sup>high</sup>CD24<sup>low</sup>肿瘤干细胞样细胞。发生了EMT后显示间质细胞形态并且表达干细胞标志蛋白的细胞可以有效地形成乳腺球、软琼脂克隆和肿瘤。而且,其他EMT诱导因子或调节因子,像Zeb1、YB-1、LBX1和Six1等,也已经被证明可以通过促进EMT发生使高度分化的细胞和肿瘤细胞产生干细胞样特性的细胞<sup>[13,15,19-23]</sup>。这些研究均表明,EMT过程和调节干细胞特性的信号通路之间有交集,肿瘤细胞可以通过EMT转化为肿瘤干细胞,也就意味着在转移的肿瘤中,肿瘤干细胞的数量得到极大增加。在促进EMT以及维持干细胞干性方面,TGF- $\beta$ 、Wnt、Notch和其他信号通路发挥了重要作用,这更加说明肿瘤细胞通过再次激活潜在的发育程序来调节多步骤的肿瘤形成过程。肿瘤耐药性和复发转移与肿瘤干细胞的干细胞特性以及EMT过程相关,这更突显了改善检测和清除微小残留病灶的方法的急迫性。然而,关于发生EMT的

细胞转化为干细胞的机制研究还不是很完善,因此,肿瘤干细胞中EMT的调节是需要我们投入更多精力的新研究领域,而这一方向的研究对于深入了解干细胞以及肿瘤根治都显得尤为重要。

## 2 非编码RNA调控EMT及肿瘤干细胞

由于EMT可以使细胞具有干细胞特性,而肿瘤干细胞是维持肿瘤增殖扩散的重要原因,因此研究者们需要更多地关注肿瘤干细胞中EMT过程的调控。非编码RNA参与多种生物过程的基因表达调控,包括增殖、分化、发育、衰老和凋亡,它们在肿瘤形成、增殖、恶化转移等多个方面都起着重要作用。最新研究也突出了非编码RNA在调节肿瘤干细胞及EMT方面的重要性,因此探索非编码RNA在调控肿瘤干细胞以及EMT过程中的潜在功能,对于肿瘤的研究具有重要意义。

### 2.1 microRNA调控EMT及肿瘤干细胞

microRNA是一类长度约为22个核苷酸的非编码RNA分子,可以通过7个与mRNA互补的核苷酸,结合到靶mRNA的3'非翻译区上,从而降解靶mRNA抑制蛋白翻译<sup>[24]</sup>。microRNA参与转录后基因表达调控,它不仅调节包括增殖、分化、发育、衰老和凋亡在内的多种生物过程,还在肿瘤形成、增长、分化和恶变等多方面起着重要作用。一个microRNA可以同时调节多个基因,同样多个microRNA也有共同的靶mRNA,通过组合达到精确调控的目的<sup>[25]</sup>。

研究表明,microRNA可以调控EMT过程中的转录因子Twist1、Snail1、Zeb1和Zeb2等,因此研究者们将microRNA当做一类新的EMT调控因子<sup>[26]</sup>。最早在2008年的时候,四个不同研究团队的研究分别表明,miR-200家族参与调节肿瘤细胞的EMT过程<sup>[27-30]</sup>。miR-200a/b/c、miR-141和miR-429等miR-200家族的成员会抑制EMT过程中Zeb1和Zeb2的表达,从而抑制EMT发生,使细胞维持上皮表型<sup>[28]</sup>,因此miR-200家族被当做是上皮细胞的重要标志分子,同时也是EMT的重要调节因素。除了miR200家族,在不同的肿瘤类型中一些其他microRNA家族成员也能通过靶向EMT的重要基因来调控EMT过程。例如,过表达miR-29b可以逆转EMT过程从而抑制细胞的侵袭表型<sup>[31]</sup>,而miR-30a会通过调控Snail1的表达来抑制TGF- $\beta$ 诱导的EMT发生<sup>[32]</sup>。除了调节转



录因子, microRNA还可以影响EMT的多个方面。例如, 人乳腺上皮细胞中miR-9可以直接调节E-钙黏蛋白的表达, 从而促使细胞获得运动性及侵袭能力等间质细胞的特性; 相反, miR-194能通过抑制间叶型肿瘤细胞N-钙黏蛋白的表达来降低细胞的侵袭、迁移和转移能力<sup>[33]</sup>。miR-661通过靶向Nectin-1和StarD10<sup>[34]</sup>, miR-491-5p通过靶向Par3<sup>[35]</sup>可以减弱细胞间连接, 而这是EMT重要的初始步骤。miR-197也可以促进胰腺癌细胞中EMT的发生, 它能抑制P120 catenin(E-钙黏蛋白的主要调控因子)的表达<sup>[36]</sup>。所以, microRNA是肿瘤细胞中调控EMT的重要分子, 可能是肿瘤治疗中一个潜在而有效的靶点。

有意思的是, microRNA也参与调节胚胎干细胞、成体干细胞或肿瘤干细胞的干细胞特性。microRNA对正常胚胎干细胞的自我更新能力以及细胞分化能力起着重要的调节作用<sup>[37]</sup>。miR-290簇可以增强干细胞的细胞周期, 包括miR-291-3p、miR-294和miR-295在内, 在不存在cMyc的情况下可以增强KLF4、OCT4和SOX2诱导多能性的效率<sup>[38]</sup>。另有研究表明, 在处于自我更新状态下的人胚胎干细胞中, miR-145的表达水平是很低的, 但是在分化的过程中却很高, 并且, OCT4、SOX2和KLF4是miR-145的直接靶基因, miR-145的上调会抑制人胚胎干细胞的自我更新并诱导其进行谱系限制性分化<sup>[39]</sup>。有文章报道, let-7在乳腺癌干细胞中表达降低, 并且let-7可以抑制调节乳腺癌干细胞自我更新的H-Ras或调节分化的HMGA2的表达, 对乳腺癌干细胞的干性和致瘤能力进行负调控, 并且在NOD/SCID小鼠中, 过表达let-7也能抑制肿瘤形成和转移<sup>[40]</sup>。这些研究表明, microRNA对于肿瘤干细胞的干细胞特性维持及分化等都有调节作用, 因此研究microRNA对于肿瘤干细胞、肿瘤临床治疗的研究都有重要意义。

最近几年, 越来越多的研究将EMT与肿瘤干细胞联系在一起, 并且发现了其中microRNA的重要作用。抑癌基因p53可以同时调控EMT和肿瘤干细胞, 而它可以直接结合在miR-200c的启动子位点来激活miR-200c的表达<sup>[41]</sup>。此外, 有研究发现在卵巢癌中过表达miR-200c可以通过调控EMT抑制肿瘤干细胞的致瘤能力和转移能力<sup>[42]</sup>。miR-200c还可以靶向调节干细胞自我更新能力的BMI1, 并且能强烈抑制乳腺癌干细胞形成肿瘤的能力<sup>[43]</sup>。另外, 干细胞因子SOX2和KLF4也是miR-200c的调控对象。由于miR-

200c和miR-203能抑制肿瘤干细胞的干细胞特性, 而EMT的激活因子ZEB1又能抑制这两个microRNA的表达, 所以通过microRNA就可以将EMT和肿瘤干细胞干细胞特性的维持联系起来<sup>[19]</sup>。由此可见, miR200c对多种干细胞功能都有重要的调控作用, 能够调节肿瘤干细胞的EMT过程、自我更新能力和增殖能力。除了miR-200家族, miR-21也被证实能够调节EMT和肿瘤干细胞。在乳腺癌中, 过表达miR-21会促使细胞发生EMT, 同时会使细胞获得肿瘤干细胞表型<sup>[44]</sup>, 而抑制miR-21表达可以造成AKT/ERK失活, 最终导致EMT过程的逆转, 并且使肿瘤干细胞的数量减少<sup>[45]</sup>。此外, Smith等<sup>[46]</sup>发现, 高表达miR-106b-25簇可以抑制靶基因Smad7的表达从而激活TGF- $\beta$ 信号通路, 使得乳腺肿瘤细胞获得EMT与肿瘤干细胞表型。

上述研究结果都表明, microRNA参与EMT过程, 并且参与胚胎干细胞、成体干细胞和肿瘤干细胞的诱导、维持和分化。上文中提到肿瘤细胞通过EMT可以转化为肿瘤干细胞, 因此我们根据现有的研究可以提出这样的假设: microRNA可能有利于肿瘤细胞通过EMT过程转变成肿瘤干细胞。所以, 很可能有一些特定的microRNA能通过调控EMT过程来维持肿瘤干细胞的表型, 同时能影响肿瘤细胞的侵袭和转移<sup>[47]</sup>。由于microRNA在肿瘤发生中具有重要的调节作用, 这些研究的发现可能会为肿瘤治疗提供新的靶点和策略, 但是microRNA通过调控EMT发生使肿瘤细胞逆分化成肿瘤干细胞的复杂机制仍没有完全清楚, 还需要进行更多、更深入的研究。

## 2.2 lncRNA调控EMT及肿瘤干细胞

lncRNA占调节ncRNA的80%, 是一类由RNA聚合酶II转录产生的长度大于200个核苷酸的非编码RNA分子, 位于细胞核内或细胞质中。相较于microRNA, lncRNA序列较长, 有的甚至超过10 Kb, 可以形成复杂的空间结构, 相应的也有较为丰富的信息量, 参与基因表达调控的分子机制也更为复杂。lncRNA可以通过碱基互补配对或者RNA折叠等方式, 形成特定而复杂的二级空间结构, 从而提供能与多个分子结合的位点, 和DNA、其他RNA以及蛋白质相互作用, 共同发挥生物学功能, 在多种层面(转录调控、转录后调控、表观遗传调控等)调控基因的表达。lncRNA不仅可以作用于邻近的基因(顺式

作用, *in cis*), 还可以在其他染色体上发挥作用(反式作用, *in trans*)<sup>[48]</sup>。随着研究的深入, lncRNA的研究已经成为一个非常吸引人而且前景远大的方向。

研究表明, lncRNA是人类基因组中一类非常重要的表观遗传调控因子, 可通过转录调控以及转录后调控等多种机制调控DNA甲基化、组蛋白修饰或染色质重构, 使基因沉默或激活<sup>[49]</sup>。而除了直接参与基因表达调控外, lncRNA还可以作为一种竞争性内源RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)与其他RNA转录本竞争相同的microRNA, 从而抑制microRNA对其靶基因的调控, 形成另一种水平的转录后调控<sup>[50]</sup>。例如, Kallen等<sup>[51]</sup>发现, 脊椎动物H19 lncRNA拥有microRNA let-7家族的结合位点, 并且证明H19能像分子海绵一样吸引住let-7, 从而调节let-7靶基因如*Dicer*和*Hmga2*的表达。另外, Chiyomaru等<sup>[52]</sup>的最新研究发现, lncRNA HOTAIR上有miR-200家族成员miR-141的结合位点, 能与miR-141特异结合, 在Argonaute2(Ago2)复合物的作用下, miR-141能抑制HOTAIR的表达及其功能, 而同时HOTAIR也能调节miR-141靶基因*ZEB1*的表达。

近年来研究发现, lncRNA在肿瘤的发生发展中起着重要作用。已有超过20种与肿瘤相关的lncRNA被报道<sup>[53]</sup>, 这些lncRNA在肿瘤细胞中表达异常, 能增加肿瘤的迁移能力。2003年, Ji等<sup>[54]</sup>首先发现并报道了第一个和肿瘤转移相关的lncRNA, 他们发现早期非小细胞肺癌在手术切除后, 有些病人预后较差, 其中首要因素为肿瘤迁移, 经基因表达分析发现, 70例发生转移的患者中lncRNA MALAT-1表达明显升高, 且体内高表达MALAT-1的肿瘤患者发生转移复发的概率比低表达的肿瘤患者提高了大约5倍。与此结果相一致的是, Schmidt等<sup>[55]</sup>的研究证实了MALAT-1能促进早期非小细胞肺癌的迁移, 并且通过裸鼠成瘤实验发现, 当抑制MALAT-1表达时, 肿瘤细胞致瘤性显著降低。接着, Ying等<sup>[56]</sup>在膀胱癌的研究中进一步发现, MALAT-1是通过引起EMT发生来促进肿瘤细胞迁移的, 并且他们还证明了MALAT-1促进EMT是通过激活Wnt信号通路。此外, Gupta等<sup>[57]</sup>发现, HOTAIR在迁移性乳腺癌中的表达量至少是正常上皮组织中的125倍以上。进一步研究表明, HOTAIR通过相互结合使多梳抑制复合物2(PRC2)和H3K27me3在基因组中的分布发生改变, 从而调控下游多种基因的表达, 促进肿瘤侵袭转

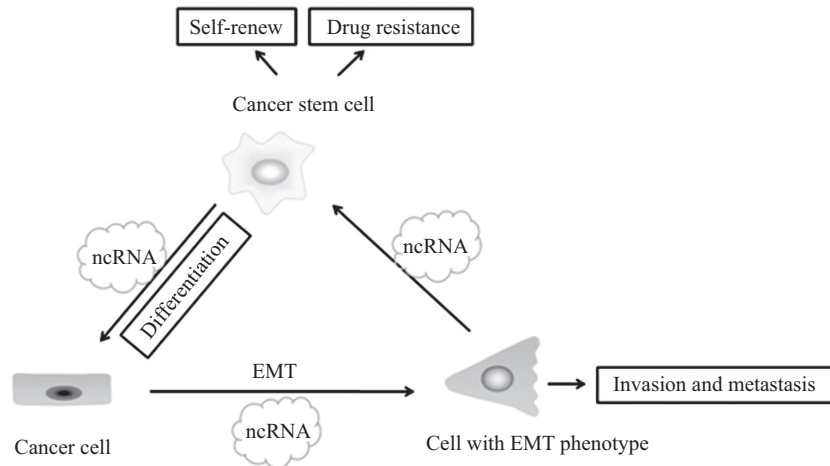
移。而Qiu等<sup>[58]</sup>的研究进一步证实, HOTAIR促肿瘤转移作用部分是由于其对EMT相关因子(E-钙黏蛋白、波形蛋白和Snail)的调节。Sun等<sup>[59]</sup>的最近研究发现, 另一个LncRNA BANCER(BRAF activated non-coding RNA)在非小细胞肺癌肿瘤组织中表达量显著下降, 而且BANCER表达量的减少会引起病人肿瘤体积增大及远端转移, 并使存活期变短。进一步研究表明, BANCER通过调节E-钙黏蛋白、N-钙黏蛋白和波形蛋白的表达在EMT中起着重要作用。Luo等<sup>[60]</sup>的研究证实了H19促进肿瘤转移也是通过抑制E-钙黏蛋白的表达。这些研究都表明, lncRNA能够调节肿瘤细胞EMT的发生, 从而在肿瘤的侵袭转移中发挥重要作用。

此外, lncRNA具有组织与时空表达特异性, 这可能与lncRNA参与胚胎干细胞分化有关<sup>[61]</sup>。有意思的是, 除了HOTAIR以外, 还有多种lncRNA通过改变组蛋白甲基化修饰<sup>[62]</sup>和染色质构象, 调节基因表达, 维持细胞干性、分化以及重编程<sup>[63]</sup>。

lncRNA在EMT、肿瘤迁移以及干细胞中尤其是体细胞重编程中的作用已经明朗。然而相对于microRNA来说, lncRNA的研究仍处于初始阶段, lncRNA的功能和作用机制仍然非常不明确, 在肿瘤细胞中, 对于lncRNA通过调控EMT产生肿瘤干细胞的研究领域尚属于空白, 甚至lncRNA在肿瘤干细胞中的作用也鲜有报道。但是基于lncRNA所蕴含的信息十分丰富, 以及参与调控的分子机制的多样性, 对于该领域研究的重要性不言而喻。

### 2.3 其他非编码RNA与肿瘤

除了microRNA和lncRNA之外, 研究发现还有一些其他的非编码RNA与肿瘤相关, 在多种肿瘤中都有异常表达, 如piRNA、snoRNA等。piRNA(piwi interacting RNA)长度一般在24~32个核苷酸, 因在生理状态下能与Piwi蛋白特异结合而得名, 能介导依赖Piwi蛋白的转座子沉默、异染色质修饰等表观遗传调控, 并且在肿瘤生成中起着重要作用, 有的piRNA被报道是致瘤的, 而有的piRNA则可能是抑癌的<sup>[64]</sup>。snoRNA(small nucleolar RNA)是最早在核仁中发现的小RNA, 最初发现它们的生物功能是用来修饰rRNA的, 但是现在越来越多的研究发现, 它们能影响多种肿瘤的生成和转移能力, 并且有望成为肿瘤诊断和治疗的靶标<sup>[65]</sup>。但是目前关于piRNA和snoRNA等的研究还相对较少, 对于其在肿瘤中



肿瘤干细胞具有自我更新能力,并可分化为肿瘤细胞,导致肿瘤的增殖,并且具有多药耐药性。EMT是肿瘤进展的重要过程,可使肿瘤细胞获得侵袭转移的能力,并可使肿瘤细胞转变后获得干细胞特性。而ncRNA(特别是microRNA和lncRNA)在这些过程中均发挥调控作用。

Cancer stem cells can self-renew and lead to drug resistance, as well as differentiate to generate the heterogeneous cancer cells. EMT plays a crucial role in tumorigenesis and cancer progression. EMT not only contributes to tumor invasion and metastasis but also generates cancer stem cells from epithelial cancer cells. ncRNA (especially microRNA and lncRNA) can regulate all these programs.

图2 ncRNA在EMT和肿瘤干细胞中的作用

Fig.2 Function of ncRNAs in EMT and cancer stem cells

的功能和作用机制尚不清楚,甚至对它们在EMT及肿瘤干细胞中的作用也知之甚少,因此还需要我们去发现它们更多的生物功能,不断追求更为完善的ncRNA调控网络。

### 3 结语与展望

肿瘤转移并不是肿瘤进展中的晚期事件,在原位癌中就已经具有了转移能力<sup>[66]</sup>,肿瘤干细胞具有无限自我更新能力,并且可以长期处于静止状态从而导致细胞耐药性<sup>[67]</sup>。肿瘤转移和复发是肿瘤治疗中的难点,目前公认提高肿瘤治疗效果的重要途径为早期发现、早期诊断、早期治疗,其理论依据就是在肿瘤致瘤性较弱和转移之前进行治疗。肿瘤细胞通过EMT获得干细胞特征理论的提出,将肿瘤转移与肿瘤干细胞这两个研究模型综合在一起(图2),虽然已有研究表明该新理论的可靠性,但是我们对它的认识只是冰山一角,因此需要开展进一步的探索性研究。基于对microRNA以及可能比microRNA具有更为强大调控能力的lncRNA的研究,包括表达谱与分子机制的研究,并以此为治疗靶点,有希望抑制原位癌甚至转移瘤的迁移性与致瘤性,使肿瘤恢复到并维持在相对的“早期阶段”,提高肿瘤治疗的效果。

### 参考文献 (References)

1 Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized

as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3(7): 730-7.

2 Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(7): 3983-8.

3 Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, *et al.* Cancer stem cells—perspectives on current status and future directions: AACR workshop on cancer stem cells. *Cancer Res* 2006; 66(19): 9339-44.

4 Pardal R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3(12): 895-902.

5 Morel AP, Lievre M, Thomas C, Hinkal G, Ansieau S, Puisieux A. Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One* 2008; 3(8): e2888.

6 Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, *et al.* The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008; 133(4): 704-15.

7 Yin G, Alvero AB, Craveiro V, Holmberg JC, Fu HH, Montagna MK, *et al.* Constitutive proteasomal degradation of TWIST-1 in epithelial-ovarian cancer stem cells impacts differentiation and metastatic potential. *Oncogene* 2013; 32(1): 39-49.

8 Kugel JF, Goodrich JA. Non-coding RNAs: Key regulators of mammalian transcription. *Trends Biochem Sci* 2012; 37(4): 144-51.

9 Yu Z, Baserga R, Chen L, Wang C, Lisanti MP, Pestell RG. microRNA, cell cycle, and human breast cancer. *Am J pathol* 2010; 176(3): 1058-64.

10 Zhao XD, Lu YY, Nie YZ, Fan DM. MicroRNAs as critical regulators involved in regulating epithelial-mesenchymal transition. *Curr Cancer Drug Targets* 2013; 13(9): 935-44.

11 Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: At the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell* 2008; 14(6): 818-29.



- 12 Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009; 139(5): 871-90.
- 13 Singh A, Settleman J. EMT, cancer stem cells and drug resistance: An emerging axis of evil in the war on cancer. *Oncogene* 2010; 29(34): 4741-51.
- 14 Tellez CS, Juri DE, Do K, Bernauer AM, Thomas CL, Damiani LA, *et al.* EMT and stem cell-like properties associated with miR-205 and miR-200 epigenetic silencing are early manifestations during carcinogen-induced transformation of human lung epithelial cells. *Cancer Res* 2011; 71(8): 3087-97.
- 15 Ouyang G, Wang Z, Fang X, Liu J, Yang CJ. Molecular signaling of the epithelial to mesenchymal transition in generating and maintaining cancer stem cells. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67(15): 2605-18.
- 16 Tiwari N, Gheldof A, Tatari M, Christofori G. EMT as the ultimate survival mechanism of cancer cells. *Semin Cancer Biol* 2012; 22(3): 194-207.
- 17 Yilmaz M, Christofori G. Mechanisms of motility in metastasizing cells. *Mol Cancer Res* 2010; 8(5): 629-42.
- 18 Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F, Kirchner T. Opinion: Migrating cancer stem cells—an integrated concept of malignant tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2005; 5(9): 744-9.
- 19 Wellner U, Schubert J, Burk UC, Schmalhofer O, Zhu F, Sonntag A, *et al.* The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs. *Nat Cell Biol* 2009; 11(12): 1487-95.
- 20 Evdokimova V, Tognon C, Ng T, Ruzanov P, Melnyk N, Fink D, *et al.* Translational activation of snail1 and other developmentally regulated transcription factors by YB-1 promotes an epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Cell* 2009; 15(5): 402-15.
- 21 Yu M, Smolen GA, Zhang J, Wittner B, Schott BJ, Brachtel E, *et al.* A developmentally regulated inducer of EMT, LBX1, contributes to breast cancer progression. *Genes Dev* 2009; 23(15): 1737-42.
- 22 McCoy EL, Iwanaga R, Jedlicka P, Abbey NS, Chodosh LA, Heichman KA, *et al.* Six1 expands the mouse mammary epithelial stem/progenitor cell pool and induces mammary tumors that undergo epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119(9): 2663-77.
- 23 Iliopoulos D, Polytarouchou C, Hatziapostolou M, Kottakis F, Maroulakou IG, Struhl K, *et al.* MicroRNAs differentially regulated by Akt isoforms control EMT and stem cell renewal in cancer cells. *Sci Signal* 2009; 2(92): ra62.
- 24 Bartel DP. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136(2): 215-33.
- 25 Subramanyam D, Blelloch R. From microRNAs to targets: Pathway discovery in cell fate transitions. *Curr Opin Genet Dev* 2011; 21(4): 498-503.
- 26 Ma L, Weinberg RA. Micromanagers of malignancy: Role of microRNAs in regulating metastasis. *Trends Genet* 2008; 24(9): 448-56.
- 27 Burk U, Schubert J, Wellner U, Schmalhofer O, Vincan E, Spaderna S, *et al.* A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells. *EMBO Rep* 2008; 9(6): 582-9.
- 28 Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, Barry SC, Tsykin A, Farshid G, *et al.* The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1. *Nat Cell Biol* 2008; 10(5): 593-601.
- 29 Korpala M, Lee ES, Hu G, Kang Y. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2. *J Biol Chem* 2008; 283(22): 14910-4.
- 30 Park SM, Gaur AB, Lengyel E, Peter ME. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes Dev* 2008; 22(7): 894-907.
- 31 Ru P, Steele R, Newhall P, Phillips NJ, Toth K, Ray RB. miRNA-29b suppresses prostate cancer metastasis by regulating epithelial-mesenchymal transition signaling. *Mol Cancer Ther* 2012; 11(5): 1166-73.
- 32 Zhang J, Zhang H, Liu J, Tu X, Zang Y, Zhu J, *et al.* miR-30 inhibits TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition in hepatocyte by targeting Snail1. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 417(3): 1100-5.
- 33 Meng Z, Fu X, Chen X, Zeng S, Tian Y, Jove R, *et al.* miR-194 is a marker of hepatic epithelial cells and suppresses metastasis of liver cancer cells in mice. *Hepatology* 2010; 52(6): 2148-57.
- 34 Vetter G, Saumet A, Moes M, Vallar L, Le Bechec A, Laurini C, *et al.* miR-661 expression in SNAI1-induced epithelial to mesenchymal transition contributes to breast cancer cell invasion by targeting Nectin-1 and StarD10 messengers. *Oncogene* 2010; 29(31): 4436-48.
- 35 Zhou Q, Fan J, Ding X, Peng W, Yu X, Chen Y, *et al.* TGF-beta-induced miR-491-5p expression promotes Par-3 degradation in rat proximal tubular epithelial cells. *J Biol Chem* 2010; 285(51): 40019-27.
- 36 Hamada S, Satoh K, Miura S, Hirota M, Kanno A, Masamune A, *et al.* miR-197 induces epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells by targeting p120 catenin. *J Cell Physiol* 2013; 228(6): 1255-63.
- 37 Marson A, Levine SS, Cole MF, Frampton GM, Brambrink T, Johnstone S, *et al.* Connecting microRNA genes to the core transcriptional regulatory circuitry of embryonic stem cells. *Cell* 2008; 134(3): 521-33.
- 38 Judson RL, Babiarz JE, Venere M, Blelloch R. Embryonic stem cell-specific microRNAs promote induced pluripotency. *Nat Biotechnol* 2009; 27(5): 459-61.
- 39 Xu N, Papagiannakopoulos T, Pan G, Thomson JA, Kosik KS. MicroRNA-145 regulates OCT4, SOX2, and KLF4 and represses pluripotency in human embryonic stem cells. *Cell* 2009; 137(4): 647-58.
- 40 Yu F, Yao H, Zhu P, Zhang X, Pan Q, Gong C, *et al.* let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell* 2007; 131(6): 1109-23.
- 41 Chang CJ, Chao CH, Xia W, Yang JY, Xiong Y, Li CW, *et al.* p53 regulates epithelial-mesenchymal transition and stem cell properties through modulating miRNAs. *Nat Cell Biol* 2011; 13(3): 317-23.
- 42 Chen D, Zhang Y, Wang J, Chen J, Yang C, Cai K, *et al.* MicroRNA-200c overexpression inhibits tumorigenicity and metastasis of CD117+CD44+ ovarian cancer stem cells by regulating epithelial-mesenchymal transition. *J Ovarian Res*

- 2013; 6(1): 50.
- 43 Shimono Y, Zabala M, Cho RW, Lobo N, Dalerba P, Qian D, *et al.* Downregulation of miRNA-200c links breast cancer stem cells with normal stem cells. *Cell* 2009; 138(3): 592-603.
- 44 Han M, Liu M, Wang Y, Mo Z, Bi X, Liu Z, *et al.* Re-expression of miR-21 contributes to migration and invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition consistent with cancer stem cell characteristics in MCF-7 cells. *Mol Cell Biochem* 2012; 363(1/2): 427-36.
- 45 Han M, Liu M, Wang Y, Chen X, Xu J, Sun Y, *et al.* Antagonism of miR-21 reverses epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotype through AKT/ERK1/2 inactivation by targeting PTEN. *PLoS One* 2012; 7(6): e39520.
- 46 Smith AL, Iwanaga R, Drasin DJ, Micalizzi DS, Vartuli RL, Tan AC, *et al.* The miR-106b-25 cluster targets Smad7, activates TGF-beta signaling, and induces EMT and tumor initiating cell characteristics downstream of Six1 in human breast cancer. *Oncogene* 2012; 31(50): 5162-71.
- 47 Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M, Rossi S, Calin GA. MicroRNAs—the micro steering wheel of tumour metastases. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(4): 293-302.
- 48 Paralkar VR, Weiss MJ. Long noncoding RNAs in biology and hematopoiesis. *Blood* 2013; 121(24): 4842-6.
- 49 Chen LL, Carmichael GG. Decoding the function of nuclear long non-coding RNAs. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(3): 357-64.
- 50 Salmena L, Poliseno L, Tay Y, Kats L, Pandolfi PP. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? *Cell* 2011; 146(3): 353-8.
- 51 Kallen AN, Zhou XB, Xu J, Qiao C, Ma J, Yan L, *et al.* The imprinted H19 lncRNA antagonizes let-7 microRNAs. *Mol Cell* 2013; 52(1): 101-12.
- 52 Chiyomaru T, Fukuhara S, Saini S, Majid S, Deng G, Shahryari V, *et al.* Long non-coding RNA HOTAIR is targeted and regulated by miR-141 in human cancer cells. *J Biol Chem* 2014; 289(18): 12550-65.
- 53 Prensner JR, Chinnaiyan AM. The emergence of lncRNAs in cancer biology. *Cancer Discov* 2011; 1(5): 391-407.
- 54 Ji P, Diederichs S, Wang W, Boing S, Metzger R, Schneider PM, *et al.* MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2003; 22(39): 8031-41.
- 55 Schmidt LH, Spieker T, Koschmieder S, Schaffers S, Humberg J, Jungen D, *et al.* The long noncoding MALAT-1 RNA indicates a poor prognosis in non-small cell lung cancer and induces migration and tumor growth. *J Thorac Oncol* 2011; 6(12): 1984-92.
- 56 Ying L, Chen Q, Wang Y, Zhou Z, Huang Y, Qiu F. Upregulated MALAT-1 contributes to bladder cancer cell migration by inducing epithelial-to-mesenchymal transition. *Mol Biosyst* 2012; 8(9): 2289-94.
- 57 Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, *et al.* Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464(7291): 1071-6.
- 58 Qiu JJ, Lin YY, Ye LC, Ding JX, Feng WW, Jin HY, *et al.* Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts poor patient prognosis and promotes tumor metastasis in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2014; 134(1): 121-8.
- 59 Sun ML, Wang KM, Nie FQ, Kong R, Yang JS, Xia R, *et al.* Downregulation of BRAF activated non-coding RNA is associated with poor prognosis for non-small cell lung cancer and promotes metastasis by affecting epithelial-mesenchymal transition. *Mol Cancer* 2014; 13(1): 68.
- 60 Luo M, Li Z, Wang W, Zeng Y, Liu Z, Qiu J. Long non-coding RNA H19 increases bladder cancer metastasis by associating with EZH2 and inhibiting E-cadherin expression. *Cancer Lett* 2013; 333(2): 213-21.
- 61 Dinger ME, Amaral PP, Mercer TR, Pang KC, Bruce SJ, Gardiner BB, *et al.* Long noncoding RNAs in mouse embryonic stem cell pluripotency and differentiation. *Genome Res* 2008; 18(9): 1433-45.
- 62 Wu SC, Kallin EM, Zhang Y. Role of H3K27 methylation in the regulation of lncRNA expression. *Cell Res* 2010; 20(10): 1109-16.
- 63 Loewer S, Cabili MN, Guttman M, Loh YH, Thomas K, Park IH, *et al.* Large intergenic non-coding RNA-RoR modulates reprogramming of human induced pluripotent stem cells. *Nat Genet* 2010; 42(12): 1113-7.
- 64 Mei Y, Clark D, Mao L. Novel dimensions of piRNAs in cancer. *Cancer Lett* 2013; 336(1): 46-52.
- 65 Mannoor K, Liao J, Jiang F. Small nucleolar RNAs in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1826(1): 121-8.
- 66 Husemann Y, Geigl JB, Schubert F, Musiani P, Meyer M, Burghart E, *et al.* Systemic spread is an early step in breast cancer. *Cancer Cell* 2008; 13(1): 58-68.
- 67 Vermeulen L, de Sousa e Melo F, Richel DJ, Medema JP. The developing cancer stem-cell model: Clinical challenges and opportunities. *Lancet Oncol* 2012; 13(2): e83-9.