

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.01.018

· 综述 ·

小激活RNA上调上皮钙黏蛋白在恶性肿瘤中表达的分子机制及其生物学意义

Molecular mechanism and biological significance of saRNA up-regulation E-cadherin expression in malignant cancers

郝家涛^a综述;王帅^b,蒋伟^b审阅(复旦大学附属中山医院 a. 全科医学科; b. 胸外科,上海 200032)

[摘要] 侵袭与转移是影响恶性肿瘤患者预后最重要的因素之一,也一直是预测肿瘤预后和改善患者生存的热点与难点。上皮钙黏蛋白(E-cadherin)低表达是恶性肿瘤最常见的表型之一,在多种肿瘤的侵袭、转移中发挥重要作用。上调上皮钙黏蛋白表达可以降低恶性肿瘤的侵袭与转移能力,甚至改善肿瘤患者的预后,为肿瘤患者的治疗提供有效措施。近年来,以RNA诱导的基因激活(RNAa)为代表的基因调控技术的发展为肿瘤精准治疗提供更多可能,为特异、有效地上调上皮钙黏蛋白表达提供新的途径。本文就上皮钙黏蛋白与RNAa技术近年来的研究进展及小激活RNA(saRNA)上调上皮钙黏蛋白表达的分子机制与生物学意义作一综述。

[关键词] 恶性肿瘤;上皮钙黏蛋白;小激活RNA(saRNA);RNA诱导的基因激活(RNAa)

[中图分类号] R730.2;R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)01-0109-07

侵袭与转移是恶性肿瘤最显著的生物学特征,也是影响患者预后最重要的因素之一。随着肿瘤分子机制研究的深入,影响恶性肿瘤侵袭与转移的分子相继被发现。上皮钙黏蛋白(E-cadherin)为钙黏蛋白1(cadherin-1, CDH-1)基因编码的细胞黏附糖蛋白,其低表达是恶性肿瘤最常见的表型之一。上皮钙黏蛋白低表达不仅导致肿瘤细胞活性与侵袭性增强,还促进EMT与细胞去分化,甚至影响Wnt/ β -catenin、受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)等信号转导通路^[1]。因此,高效、特异、持续地上调上皮钙黏蛋白表达是恶性肿瘤精准治疗的重要策略。2006年,LI等^[2]首次发现小激活RNA(small activating RNA, saRNA)可靶向作用于CDH-1基因启动子区域非CpG岛序列的特异性位点,引起上皮钙黏蛋白表达上调5~12倍,并将此现象命名为RNA诱导的基因激活(RNA activation, RNAa;图1)。随后多项研究证实,RNAa技术诱导前列腺癌、乳腺癌、膀胱癌细胞的上皮钙黏蛋白表达上调可降低癌细胞的侵袭与转移能力,甚至促进细胞凋亡。与RNA干扰(RNA interpreting, RNAi)相比,RNAa技术在细胞内作用更稳定,对靶基因的作用更持久,在肿瘤治疗方面科学意义重大,将对肿瘤精准治疗、药物研发及基因操控等多方面带来重大改变。本文现就saRNA上调上皮钙黏蛋白表达的分子机制与生物学意义作一综述,旨在为恶性肿瘤的治疗提供新思路。

1 CDH-1基因概述

1983年,GALLIN等^[3]在胚胎鸡的肝细胞中首次发现上皮钙黏蛋白糖蛋白,起初被命名为L-细胞黏附分子(L-cell adhesion molecule, L-CAM)。1995年,BERX等^[4]用荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)技术确认人CDH-1基因位于染色体16q22.1。CDH-1基因长达100 kb,由16个外显子与15个内含子组成,cDNA序列长度为4.8 kb。CDH-1基因编码的上皮钙黏蛋白为经典钙黏蛋白-I型家族中的一员,该家族还包括CDH-2基因编码的神经钙黏蛋白(N-cadherin)和CDH-3基因编码的胎盘钙黏蛋白(P-cadherin)等。经典钙黏蛋白-I型家族成员均为穿膜糖蛋白,由N-末端胞外区、穿膜区和C-末端胞内区3部分组成。其中,N-末端胞外区结构对经典钙黏蛋白的功能维持最为重要,胞外区主要由110个氨基酸残基构成的功能模块(ectodomain, EC),高度保守的Ca²⁺结合基序及胞外近膜序列等结构组成^[5]。

[基金项目] 上海市科学技术委员会扬帆计划资助项目(No. 17YF1402400)。Project supported by the Sailing Program of Shanghai Science and Technology Commission(No.17YF1402400)

[作者简介] 郝家涛(1991-),男,硕士生,主要从事老年人群慢性疾病的研究,E-mail:jett0314@163.com

[通信作者] 王帅(WANG Shuai, corresponding author),博士,住院医师,主要从事食管癌的基础研究及临床诊疗的研究,E-mail:wang.shuai@zs-hospital.sh.cn;蒋伟(JIANG Wei, co-corresponding author),博士,副主任医师,主要从事胸部肿瘤的基础与临床诊疗研究,E-mail:jiang.wei1@zs-hospital.sh.cn

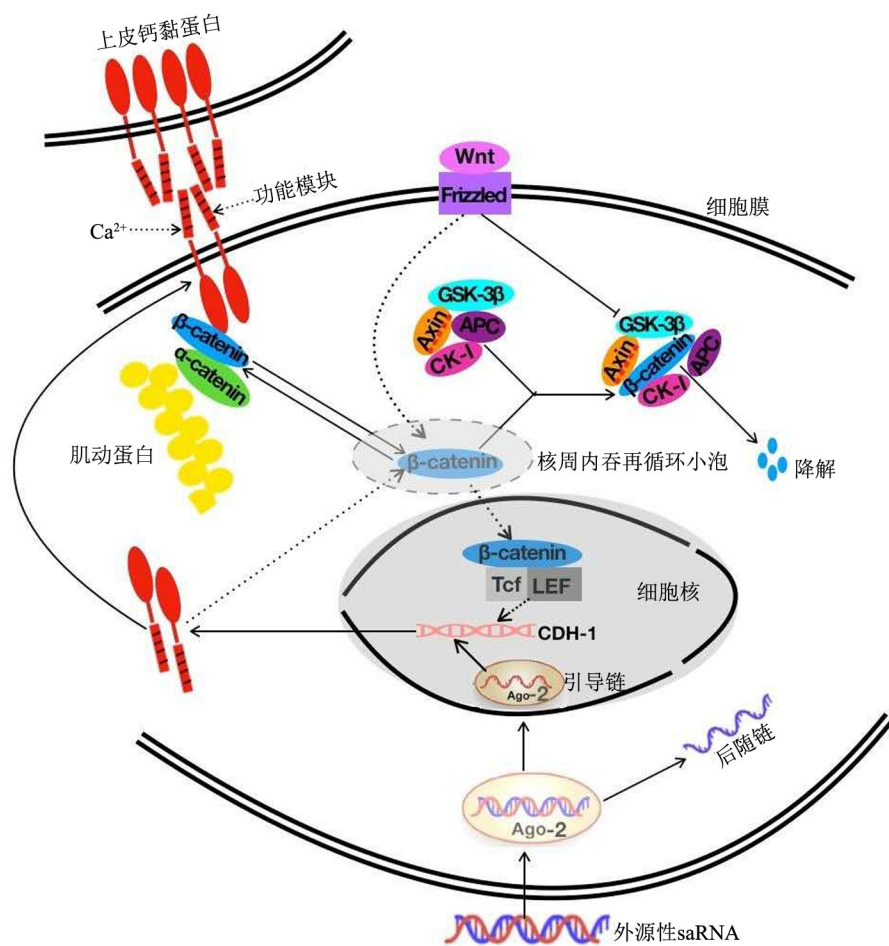


图1 上皮钙黏蛋白的RNAa作用示意图

上皮钙黏蛋白是相对分子质量为 120 000 的单次穿膜糖蛋白,以嗜同性的方式介导细胞间黏附,其胞外区含有 4 个功能模块(EC1-EC4)、1 个胞外近膜序列(EC5 或 MPED)和 3 种 Ca^{2+} 结合基序。上皮钙黏蛋白胞外区相互聚集形成同源二聚体,同型细胞表面相邻的同源二聚体互相嵌合形成拉链状结构增强细胞间黏附(图 1)。 Ca^{2+} 与 Ca^{2+} 结合基序紧密结合使 EC 间连接、胞外段结构及拉链状结构更稳定^[6-7]。上皮钙黏蛋白黏附功能的发挥不仅依赖细胞外拉链状结构,还受细胞质内连环蛋白(catenin)的调控。连环蛋白主要包括 α -连环蛋白及 β -连环蛋白。 β -连环蛋白是上皮钙黏蛋白关系最为密切的细胞质内黏附相关蛋白。 β -连环蛋白与上皮钙黏蛋白的胞内区结合,聚集于近细胞膜侧,并与肌动蛋白(actin)连接,形成 cadherin-catenin-actin 复合物,从而促进细胞间黏附,维持细胞极性。

上皮钙黏蛋白对正常上皮细胞的细胞间黏附和形态维持至关重要,其在恶性肿瘤的发生发展过程中也发挥重要作用。上皮钙黏蛋白低表达是恶性肿瘤最常见的表型之一,与肿瘤的转移、复发有着密切联系^[8]。研究^[9]证实,恶性肿瘤 CDH-1 基因启动子甲

基化或转录阻遏蛋白(SNAIL、SLUG 及 ZEB1 等)表达上调均可抑制上皮钙黏蛋白的表达。上皮钙黏蛋白低表达增加肿瘤细胞活性,促进肿瘤细胞侵袭、转移。上皮钙黏蛋白低表达和由此导致的细胞间黏附减弱是 EMT 的关键步骤,由此认为 EMT 是肿瘤细胞获得更强转移扩散能力的重要事件^[10-11]。然而,上皮钙黏蛋白功能缺失也可作为 EMT 的后续事件,即 EMT 通过表观遗传沉默负性调控 CDH-1 基因表达^[12]。需要注意的是,EMT 不是肿瘤特有的过程,EMT 在胚胎发生、器官发育和伤口修复过程中也发挥重要作用^[13]。上皮钙黏蛋白亦参与正常上皮细胞及肿瘤细胞的分化。表达于上皮细胞的盘状结构域受体-1(discoidin domain receptor-1, DDR-1)是胶原蛋白的 RTK,DDR-1-RTK 复合物通过稳定上皮钙黏蛋白介导的细胞间黏附触发细胞分化。上皮钙黏蛋白低表达使 DDR-1 无法触发肿瘤细胞分化,甚至引起肿瘤细胞去分化^[14]。

上皮钙黏蛋白通过多种信号通路影响细胞生物学行为(图 1)。 β -连环蛋白是 cadherin/catenin 信号通路与 Wnt/ β -catenin 信号通路的重要交汇点,上皮钙黏蛋白通过 β -连环蛋白调控 Wnt/ β -catenin 信号通路。

上皮钙黏蛋白低表达促进胞内段结合的 β -连环蛋白释放,游离的 β -连环蛋白再聚集于核周内吞再循环小泡(endocytic recycling compartment, ERC)^[15]。Wnt信号通路抑制时,ERC中丰富的 β -连环蛋白与GSK-3 β 、CK-I、APC及Axin形成复合物,并被GSK-3 β 、CK-I磷酸化。磷酸化的 β -连环蛋白通过泛素-蛋白酶系统降解。Wnt信号通路激活时,GSK-3 β 、CK-I的磷酸化活性被抑制,阻止 β -连环蛋白降解。 β -连环蛋白进而转位至细胞核,通过TCF/LEF等转录因子调控靶基因转录。上皮钙黏蛋白使 β -连环蛋白聚集于细胞质近膜区,降低ERC中的 β -连环蛋白浓度,从而抑制其转位至细胞核,故上皮钙黏蛋白可作为Wnt/ β -catenin信号通路的负性调控因子^[16]。相反,上皮钙黏蛋白低表达可升高ERC中的 β -连环蛋白水平,以此正性调控Wnt/ β -catenin信号通路。目前关于上皮钙黏蛋白与Wnt/ β -catenin信号通路之间的相互作用仍存在争论,笔者推测上皮钙黏蛋白与Wnt/ β -catenin信号通路间可能存在反馈环路。除此以外,上皮钙黏蛋白通过不依赖C-末端胞内区的方式参与RTKs信号通路。上皮钙黏蛋白的N-末端胞外区作用于肿瘤细胞表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR),激活EGFR介导的PI3K/AKT、ERK1/2等信号通路^[17]。上皮钙黏蛋白也可抑制配体与RTK的结合或降低配体-受体间的亲和力,负性调控不同类型的RTK^[18]。

2 RNAa概述

2006年LI等^[2]在实验中偶然发现,转染dsRNA的肿瘤细胞的上皮钙黏蛋白表达水平显著上调。随后证实dsRNA可作用于血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)基因与p21基因的启动子区域特异性位点,诱导VEGF基因与p21基因表达上调。LI等将此现象命名为RNAa,即dsRNA靶向作用于基因调控序列(包括启动子或其他非编码序列)的特定位点,诱导基因转录或改变基因表观遗传学特征。并且,LI等^[2]将可以激活基因表达的dsRNA命名为saRNA。saRNA一般是21 nt的外源合成型短双链RNA。saRNA进入感染态细胞后,在细胞质内聚集。导入细胞质的saRNA与Argonaute-2(Ago-2)蛋白形成saRNA-Ago-2复合物,而含局部突起或碱基错配的saRNA需依赖Ago-1或Ago-2^[19]。Ago-2为复合物的形成提供平台,并引导复合物进入细胞核。saRNA-Ago-2复合物在细胞质中形成,但其进入细胞核的机制仍不清楚,因为saRNA与Ago-2在细胞核中的装配机制不同于细胞质中^[20]。进入细胞核的saRNA-Ago-2复合物在引导链的指引下靶向

结合于靶基因启动子序列的特定位点形成RNA-DNA杂交核酸^[2]。随后,Ago-2招募RNA聚合酶II(RNA polymerase II, RNAP II)、聚合酶相关因子-1复合物(polymerase-associated factor 1 complex, Paf-1C)和转录调节因子聚集于靶启动子区域,与saRNA-Ago-2复合物共同形成RNA诱导的转录激活复合物(RNA-induced transcriptional activation complex, RITA)。RNAP II C-末端结构域的丝氨酸-5(Ser5)和丝氨酸-2(Ser2)可被磷酸化形成Ser5P和Ser2P,而saRNA在转录起始位点(transcription start site, TSS)诱导Ser2P生成,在转录延长中减少Ser5P生成,说明saRNA可通过RNAP II促进CDH-1基因转录的起始与延长^[21]。Paf-1C向RNAP II招募E2/E3泛素连接酶等组蛋白修饰因子,触发一系列组蛋白修饰。H3K9me2、H3K9me3、H3K9乙酰化(H3K9ac)和H3K4ac等组蛋白转录抑制性修饰的丧失和H3K4me2、H3K4me3等组蛋白转录促进性修饰的获得导致染色体结构发生改变,从而促进靶基因转录^[22]。目前仍需研究进一步证实saRNA作用于靶启动子是否是引起表观遗传学和相关表观遗传学改变的分子机制。

由于细胞核固有的外排特性,与发生在细胞质的RNAi相比,发生于细胞核的RNAa则需要更高浓度的saRNA^[23],其有效剂量范围为1~50 nmmol/L,50%最大效应浓度(EC₅₀)为1~10 nmmol/L^[2,24]。在siRNA转染后的几小时内便可检测到RNAi诱导的基因表达下调,而RNAa诱导的基因表达上调需在saRNA转染24~48 h后才能检测到,并在4~5 d达到高峰^[25],这一差别可能是因为saRNA的效应位置在核内且包含组蛋白修饰等限速步骤。RNAa的基因表达诱导效应可持续10 d以上^[24],可能是由于靶启动子表观遗传学的改变可传代,更加说明RNAa具有独特的动力学特征,可能涉及更复杂的调控机制。LI等^[2]证实,saRNA在诱导特异基因表达的同时不影响非特异基因的表达,一定程度上说明了RNAa技术的有效性和安全性。RNAa作用于不同基因,产生不同的生物学效应。上调p21、NKX3-1、HIC-1及PARP基因表达可调控细胞周期与促进细胞凋亡,上调CDH-1、KLF-4基因表达可抑制癌细胞侵袭与转移^[26-27],为RNAa技术在癌症精准治疗中的应用提供更多可能。

然而,RNAa技术也面临困难与挑战。首先,如何选择最佳作用位点?研究^[2]表明,启动子和基因3'末端存在合适的靶位点,但是saRNA最有效的靶位点位于转录起始位点的上游。saRNA诱导的基因激活可能受DNA超甲基化的影响,所以通常避免saRNA靶序列中存在CpG岛。未来,有必要阐明DNA

超甲基化对RNAa的抑制作用是否具有普遍性或基因特异性,以及其他可能影响RNAa靶效率的表观遗传因素。其次,RNAa可能会造成脱靶效应,如干扰素应答。脱靶效应,即以序列特异性或非序列特异性的方式诱导不必要的基因激活。为了避免序列特异性的脱靶效应,saRNA序列应该与人类基因组中的其他核苷酸序列缺乏显著的同源性^[28]。虽然存在诸多未解难题,但是RNAa技术仍然为基因操控研究、癌症精准治疗提供新的方向。

3 saRNA上调上皮钙黏蛋白表达在肿瘤诊治中的应用潜力

3.1 前列腺癌

前列腺癌是最重要的男性恶性疾病之一,器官转移是前列腺癌最主要的致死原因^[29]。BARBER等^[30]应用免疫组织荧光染色检测414例前列腺癌患者的上皮钙黏蛋白表达情况,发现上皮钙黏蛋白在前列腺癌组织的表达水平显著低于正常前列腺组织($P<0.01$),其表达缺失与前列腺癌的肿瘤分化密切相

关,上皮钙黏蛋白低表达患者的预后更差($P<0.05$)。该研究结果说明,上皮钙黏蛋白低表达可能在前列腺癌的发生发展中发挥重要作用。

LI等^[2]设计合成2个靶向于CDH-1基因启动子区域215(dsEcad-215)和302(dsEcad-302)位点的21-nt dsRNA作为实验序列,合成21-nt dsRNA(dsCon-1)作为对照序列(saRNA序列如表1所示)。该研究者使用dsRNA分别转染2种人前列腺癌细胞株PC-3、DU-145。实验组PC-3细胞的上皮钙黏蛋白表达水平在转染后48 h内显著增加,细胞增殖活力在转染dsRNA 3 d后便丧失。在单次转染dsEcad-215后的第10天和第13天,实验组PC-3细胞的上皮钙黏蛋白表达水平分别增加14倍和3.8倍($P<0.05$)。尽管DU-145细胞株通常表达高水平的上皮钙黏蛋白,但dsEcad-215、dsEcad-302转染仍可上调上皮钙黏蛋白的表达。该实验证实,dsEcad-215和dsEcad-302序列可靶向作用于CDH-1基因启动子区域的特异位点,诱导上皮钙黏蛋白表达上调,并可降低PC-3细胞的增殖活性。

表1 上皮钙黏蛋白的saRNA序列

作者	dsEcad 名称	正义链	反义链
LI ^[2]	dsEcad-302	AGA ACU CAG CCA AGU GUA A[dT][dT]	UUA CAC UUG GCU GAG UUC U[dT][dT]
	dsEcad-215	AAC CGU GCA GGU CCC AUA A[dT][dT]	UUA UGG GAC CUG CAC GGU U[dT][dT]
	dsCon	ACU UAC GAG UGA CAG UAG A[dT][dT]	UCU ACU GUC ACU CGU AAG U[dT][dT]
MAO ^[28,31]	dsEcad-215	AAC CGU GCA GGU CCC AUA A[dT][dT]	UUA UGG GAC CUG CAC GGU U[dT][dT]
	dsCon	ACU ACU GAG UGA CAG UAG A[dT][dT]	UCU ACU GUC ACU CAG UAG U[dT][dT]
WEI ^[33]	dsEcad-302	AGA ACU CAG CCA AGU GUA A[dT][dT]	UUA CAC UUG GCU GAG UUC U[dT][dT]
	dsEcad-215	AAC CGU GCA GGU CCC AUA A[dT][dT]	UUA UGG GAC CUG CAC GGU U[dT][dT]
	dsCon	UUC UCC GAA CGU GUC ACG U[dT][dT]	ACG UGA CAC GUU CGG AGA A[dT][dT]

MAO等^[31]用dsEcad-215靶向作用于PC-3细胞CDH-1基因启动子区域的215位点。qPCR和Western blotting实验证实,转染dsEcad-215的PC-3细胞的上皮钙黏蛋白表达水平较对照组升高3倍($P<0.05$)。Transwell实验和细胞划痕愈合实验结果显示,转染dsEcad-215的PC-3细胞的迁移及侵袭能力较对照组显著降低($P<0.05$)。该研究再次证实,saRNA特异性上调上皮钙黏蛋白表达的可行性,表明特异性上调上皮钙黏蛋白表达可有效降低PC-3细胞的侵袭与迁移能力,为前列腺癌的治疗提供更多可能。

3.2 乳腺癌

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,早期筛查和治疗方案的完善使乳腺癌患者的预后得到改善,但耐药、转移仍是亟待解决的难题。SASAKI等^[32]发现,未表达上皮钙黏蛋白的小鼠乳腺癌细胞

(F.Neo细胞)比表达上皮钙黏蛋白的小鼠乳腺癌细胞(F.Cad细胞)更易产生依托泊苷耐药。为了验证上调上皮钙黏蛋白表达是否恢复F.Neo细胞对依托泊苷的敏感性,研究者使用上皮钙黏蛋白基因表达载体转染F.Neo细胞,形成F.Cad细胞。与F.Neo细胞相比,F.Cad细胞的侵袭性下降约5倍($P<0.05$);当依托泊苷药物浓度为15 μmmol/L时,F.Cad细胞对依托泊苷的药物敏感性约为F.Neo细胞的3倍($P<0.05$)。研究表明,上皮钙黏蛋白表达下调不仅降低乳腺癌细胞对化疗药物的敏感性,还增强癌细胞的活动性及侵袭性。上调上皮钙黏蛋白表达可恢复乳腺癌细胞对化疗药物敏感性,还可抑制乳腺癌细胞的侵袭和转移^[2,32]。

WEI等^[33]使用外源性saRNA转染人乳腺癌细胞株(MDA-MB-453,MCF-7),分别靶向作用于CDH-1

基因启动子区域的215、302位点(saRNA序列见表1)。Western blotting实验证实,dsEcad-215、dsEcad-302可分别上调MDA-MB-453、MCF-7细胞的上皮钙黏蛋白表达($P<0.05$)。TUNEL实验显示,dsEcad-215转染的MDA-MB-453细胞的凋亡率较对照组增加14.1%(17.8% vs 3.7%, $P<0.05$); dsEcad-215转染的MCF-7细胞的凋亡率较对照组增加12.6%(19.4% vs 6.8%, $P<0.05$)。qPCR实验证实,dsEcad-215转染的MDA-MB-453、MCF-7细胞的存活素表达较对照组显著降低($P<0.05$)。细胞划痕愈合实验证实,dsEcad-215转染的MDA-MB-453、MCF-7细胞的迁移率显著低于对照组($P<0.05$)。该研究证实,saRNA可作用于CDH-1基因启动子区域的不同位点上调上皮钙黏蛋白表达,为RNAa技术治疗乳腺癌提供更多有效靶点。RNAa技术上调上皮钙黏蛋白表达抑制癌细胞侵袭与迁移,促进乳腺癌细胞的凋亡,为乳腺癌个体化治疗提供良好平台。

3.3 膀胱癌

膀胱癌是男性第4大癌症,复发率高达30%~85%,且10%~30%的患者最终进展为肌层浸润型膀胱癌。最近的一项Meta分析研究了2 089例膀胱癌患者,结果显示上皮钙黏蛋白表达与膀胱癌患者的病理分期($RR=2.14$, 95% CI : 1.70~2.71)、肿瘤转移($RR=1.68$, 95% CI : 1.17~2.40)及肿瘤分化($RR=1.58$, 95% CI : 1.29~1.93)显著相关;而且,上皮钙黏蛋白表达水平与膀胱癌患者的总生存期($HR=2.73$, 95% CI : 1.74~4.27, $P<0.01$)及无进展生存期($HR=6.39$, 95% CI : 3.48~11.73, $P<0.01$)密切相关^[34]。

MAO等^[28]将外源性dsEcad-215通过Lipofectamine™2000试剂转染至人膀胱癌细胞株5637中,dsEcad-215靶向作用于CDH-1基因启动子区域的215位点(saRNA序列见表1)。qPCR技术证实,dsEcad-215转染的5637细胞的CDH-1基因转录水平比对照组增加约2.1倍($P<0.05$); Western blotting实验显示,上皮钙黏蛋白表达水平较对照组增加2.0倍($P<0.05$);实验组的细胞划痕在24 h后仍未愈合,而对照组的细胞划痕在24 h内全部愈合($P<0.05$)。然而,Transwell侵袭实验未证实dsEcad-215转染的5637细胞的细胞活性低于对照组($P>0.05$)。免疫荧光数据显示,实验组细胞的细胞质及核内的 β -连环蛋白存在重新定位现象。据此推测,上皮钙黏蛋白表达上调增强 β -连环蛋白在细胞质近细胞膜侧的定位,增强膀胱癌细胞间黏附,从而抑制实验组癌细胞的侵袭与远处转移。该研究表明,RNAa技术上调CDH-1基因表达是膀胱癌的潜在治疗策略,为膀胱癌患者的治疗提供了新思路。

目前saRNA上调上皮钙黏蛋白表达的研究只限于细胞功能试验,缺乏具体细胞分子机制研究。笔者课题组目前正在进行相关基础研究,旨在研究saRNA上调上皮钙黏蛋白表达对肿瘤细胞生物学行为的作用及分子机制。根据前人研究结果,笔者推测saRNA上调CDH-1基因表达的潜在分子机制是:遗传学和表观遗传学改变均可调控基因表达,但启动子甲基化和组蛋白翻译后修饰等表观遗传学改变是前列腺癌、乳腺癌及膀胱癌等多种恶性肿瘤CDH-1基因表达下调的最主要原因^[35]。甲基连接于CDH-1基因启动子区域胞嘧啶核苷酸的第5个碳原子形成5-甲基胞嘧啶,启动子区域的超甲基化CpG阻止转录起始因子与CDH-1基因的转录元件结合,从而沉默CDH-1基因表达^[4,35]。此外,甲基化、乙酰化、磷酸化等组蛋白翻译后修饰通过改变组蛋白结构和功能,改变染色体结构,从而抑制CDH-1基因表达。RNAa技术可针对启动子超甲基化和组蛋白翻译后修饰上调CDH-1基因表达^[36]。进入细胞核的saRNA-Ago-2复合物在引导链的指引下靶向结合于CDH-1基因启动子区域的215或302位点形成RNA-DNA杂交核酸^[2]。随后,Ago-2招募RNAP II、Paf-1C和转录调节因子聚集于CDH-1启动子区域,与saRNA-Ago-2复合物共同形成RITA^[21]。与此同时,Paf-1C向RNAP II招募组蛋白修饰因子,触发一系列组蛋白修饰,导致染色体结构发生改变,从而促进CDH-1基因转录^[22]。saRNA诱导恶性肿瘤CDH-1基因表达上调的具体机制仍需进一步研究证实。

4 展 望

随着分子肿瘤学的发展,上皮钙黏蛋白在肿瘤发生发展中扮演的角色被逐渐披露。肿瘤细胞上皮钙黏蛋白功能缺失促进EMT与细胞去分化,影响Wnt/ β -catenin、RTKs等细胞信号转导通路,最终导致肿瘤细胞间黏附减弱、活动性与侵袭性增强。因此,恢复上皮钙黏蛋白生物学功能是肿瘤治疗的重要手段之一。近年来,RNAa技术的快速发展为肿瘤精准治疗提供更简便的平台。saRNA靶向作用于肿瘤细胞CDH-1基因启动子区域的特异性位点上调上皮钙黏蛋白表达,显著改变肿瘤细胞的生物学行为。应用RNAa技术诱导CDH-1基因表达上调可能成为一种新的肿瘤治疗方法。但是,RNAa技术目前仍处于探索阶段,尚未应用于临床,仍需要进一步的细胞及动物实验。笔者课题组目前正在进行相关实验,深入探索RNAa技术在肿瘤中的应用价值和分子机制。RNAa技术调控基因表达的特异性、靶位点选择的灵活性和作用的高效性,使其在肿瘤个体化治疗方面

有着良好的应用前景。

[参 考 文 献]

- [1] YU J M, SUN W, HUA F, et al. BCL6 induces EMT by promoting the ZEB1-mediated transcription repression of E-cadherin in breast cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2015, 365(2): 190-200. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.05.029.
- [2] LI L C, OKINO S T, ZHAO H, et al. Small dsRNAs induce transcriptional activation in human cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(46): 17337-17342. DOI:10.1073/pnas.0607015103.
- [3] GALLIN W J, EDELMAN G M, CUNNINGHAM B A, et al. Characterization of L-CAM, a major cell adhesion molecule from embryonic liver cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1983, 80(4): 1038-1042. DOI: 10.1073/pnas.80.4.1038.
- [4] BERX G, STAES K, VAN HENGE J, et al. Cloning and characterization of the human invasion suppressor gene E-cadherin (CDH1) [J]. *Genomics*, 1995, 26(2): 281-289. DOI: 10.1016/0888-7543(95)80212-5.
- [5] VAN ROY F. Beyond E-cadherin: roles of other cadherin superfamily members in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(2): 121-134. DOI:10.1038/nrc3647.
- [6] NARDONE V, LUCARELLI A P, DALLE VEDOVE A, et al. Crystal structure of human E-cadherin-EC1EC2 in complex with a peptidomimetic competitive inhibitor of cadherin homophilic interaction [J]. *J Med Chem*, 2016, 59(10): 5089-5094. DOI:10.1021/acs.jmedchem.5b01487.
- [7] TAKEDA H. Effects of Cd²⁺ on cis-dimer structure of E-cadherin in living cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 444(4): 467-472. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.01.072.
- [8] BAJRAMI I, MARLOW R, VAN DE VEN M, et al. E-cadherin/ROS1 inhibitor synthetic lethality in breast cancer[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(4): 498-515. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0603.
- [9] ASAKURA T, YAMAGUCHI N, OHKAWA K, et al. Proteasome inhibitor-resistant cells cause EMT-induction via suppression of E-cadherin by miR-200 and ZEB1[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(5): 2251-2260. DOI: 10.3892/ijo.2015.2916.
- [10] BRABLETZ T, KALLURI R, NIETO M A, et al. EMT in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(2): 128-134. DOI: 10.1038/nrc.2017.118.
- [11] ZHANG J, CHEN X Y, HUANG K J, et al. Expression of FoxM1 and the EMT-associated protein E-cadherin in gastric cancer and its clinical significance[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(4): 2445-2450. DOI: 10.3892/ol.2016.4917.
- [12] DAUGAARD I, SANDERS K J, IDICA A, et al. miR-151a induces partial EMT by regulating E-cadherin in NSCLC cells[J/OL]. *Oncogenesis*, 2017, 6(7): e366[2018-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5541717/>. DOI: 10.1038/oncsis.2017.66.
- [13] 陆虹旻, 马俐君. 上皮间质细胞转化的分子机制及其在肿瘤转移中的作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2009, 16(5): 541-545. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.5.025.
- [14] 翟羽, 易龙, 常徽. 肿瘤细胞上皮间质转化表观遗传调控机制的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2016, 23(1): 114-118. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.019.
- [15] ZHU X, LI Y, ZHOU R, et al. Knockdown of E-cadherin expression of endometrial epithelial cells may activate Wnt/ β -catenin pathway in vitro[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2018, 297(1): 117-123. DOI: 10.1007/s00404-017-4560-0.
- [16] HUANG T S, LI L, MOALIM-NOUR L, et al. A regulatory network involving β -Catenin, E-cadherin, PI3k/Akt, and slug balances self-renewal and differentiation of human pluripotent stem cells in response to Wnt signaling[J]. *Stem Cell*, 2015, 33(5): 1419-1433. DOI: 10.1002/stem.1944.
- [17] LI D, LO W, RUDLOFF U, et al. Merging perspectives: genotype-directed molecular therapy for hereditary diffuse gastric cancer (HDGC) and E-cadherin-EGFR crosstalk[J]. *Clin Transl Med*, 2018, 7(1): 7. DOI: 10.1186/s40169-018-0184-7.
- [18] BROUXHON S M, KYRKANIDES S, RAJA V, et al. Ectodomain-specific E-cadherin antibody suppresses skin SCC growth and reduces tumor grade: a multitargeted therapy modulating RTKs and the PTEN-p53-MDM2 axis[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(7): 1791-1802. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0971.
- [19] CHALUVALLY-RAGHAVAN P, JEONG K J, PRADEEP S, et al. Direct upregulation of STAT3 by microRNA-551b-3p deregulates growth and metastasis of ovarian cancer[J]. *Cell Rep*, 2016, 15(7): 1493-1504. DOI:10.1016/j.celrep.2016.04.034.
- [20] GAGNON K T, LI L, CHU Y J, et al. RNAi factors are present and active in human cell nuclei[J]. *Cell Rep*, 2014, 6(1): 211-221. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.12.013.
- [21] LI L C. Chromatin remodeling by the small RNA machinery in mammalian cells[J]. *Epigenetics*, 2014, 9(1): 45-52. DOI: 10.4161/epi.26830.
- [22] JIAO A L, SLACK F J. RNA-mediated gene activation[J]. *Epigenetics*, 2014, 9(1): 27-36. DOI: 10.4161/epi.26942.
- [23] YI R, QIN Y, MACARA I G, et al. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs[J]. *Genes Dev*, 2003, 17(24): 3011-3016. DOI: 10.1101/gad.1158803.
- [24] WANG X L, WANG J, HUANG V, et al. Induction of NANOG expression by targeting promoter sequence with small activating RNA antagonizes retinoic acid-induced differentiation[J]. *Biochem J*, 2012, 443(3): 821-828. DOI:10.1042/BJ20111491.
- [25] JANOWSKI B A, YOUNGER S T, HARDY D B, et al. Activating gene expression in mammalian cells with promoter-targeted duplex RNAs[J]. *Nat Chem Biol*, 2007, 3(3): 166-173. DOI: 10.1038/nchembio860.
- [26] PLACE R F, WANG J, NOONAN E J, et al. Formulation of small activating RNA into lipidoid nanoparticles inhibits xenograft prostate tumor growth by inducing p21 expression[J/OL]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2012, 1: e15[2018-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3381590/>. DOI:10.1038/mtna.2012.5.
- [27] HUANG V, QIN Y, WANG J, et al. RNAa is conserved in mammalian cells[J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8848[2018-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2809750/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0008848.
- [28] MAO Q Q, LI Y B, ZHENG X Y, et al. Up-regulation of E-cadherin by small activating RNA inhibits cell invasion and migration in 5637 human bladder cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 375(4): 566-570. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.08.059.
- [29] ABATE-SHEN C. Prostate cancer metastasis-fueled by fat? [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(17): 1643-1645. DOI: 10.1056/NEJMcibr1800808.

- [30] BARBER A G, CASTILLO-MARTIN M, BONAL D M, et al. PI3K/AKT pathway regulates E-cadherin and Desmoglein 2 in aggressive prostate cancer[J]. *Cancer Med*, 2015, 4(8): 1258-1271. DOI: 10.1002/cam4.463.
- [31] MAO Q Q, ZHENG X Y, YANG K, et al. Suppression of migration and invasion of PC3 prostate cancer cell line via activating E-cadherin expression by small activating RNA[J]. *Cancer Invest*, 2010, 28(10): 1013-1018. DOI: 10.3109/07357900802620844.
- [32] SASAKI C Y, LIN H C, PASSANITI A, et al. Expression of E-cadherin reduces Bcl-2 expression and increases sensitivity to etoposide-induced apoptosis[J/OL]. *Int J Cancer*, 2000, 86(5): 660-666[2018-06-05]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/%28SICI%291097-0215%2820000601%2986%3A5%3C660%3A%3AAID-IJC9%3E3.0.CO%3B2-X>. DOI: 10.1002/(sici)1097-0215(20000601)86:5<660::aid-ijc9>3.0.co;2-x.
- [33] WEI J X, GAO P, HAN Y, et al. Double strand RNA-guided endogenous E-cadherin up-regulation induces the apoptosis and inhibits proliferation of breast carcinoma cells in vitro and in vivo[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(8): 1790-1796. DOI:10.1111/j.1349-7006.2010.01594.x.
- [34] XIE Y, LI P, GAO Y, et al. Reduced E-cadherin expression is correlated with poor prognosis in patients with bladder cancer: a systematic review and meta-analysis[J / OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(37): 62489-62499[2018-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5617523/>. DOI: 10.18632/oncotarget.19934.
- [35] WONG S H M, FANG C M, CHUAH L H, et al. E-cadherin: its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications[J/OL]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 121: 11-22[2018-06-05]. [https://www.croh-online.com/article/S1040-8428\(17\)30224-X/fulltext](https://www.croh-online.com/article/S1040-8428(17)30224-X/fulltext). DOI:10.1016/j.critrevonc.2017.11.010.
- [36] NICKEL A, STADLER S C. Role of epigenetic mechanisms in epithelial-to-mesenchymal transition of breast cancer cells[J]. *Transl Res*, 2015, 165(1): 126-142. DOI:10.1016/j.trsl.2014.04.001.

[收稿日期] 2018-06-10

[修回日期] 2018-11-13

[本文编辑] 党瑞山