

胃癌干细胞中差异表达 microRNA 对其生物学特性的影响

潘韵芝,舒雄,孙力超,遇珑,孙立新,杨治华,冉宇靓
(国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院,北京 100021)

摘要: [目的] 探讨胃癌干细胞中差异表达 microRNA 及其对胃癌干细胞生物学特性 (自我更新、侵袭、耐药能力) 的调控作用。[方法] 采用无血清悬浮培养法和干细胞标志物流式分选术分离人胃癌干细胞;分别采用胃癌细胞球形成实验、体外侵袭、耐药实验鉴定胃癌干细胞的生物学特性;microRNA 表达谱芯片检测人胃癌干细胞中差异表达 microRNA;采用定量逆转录 PCR (qRT-PCR) 技术检测相关差异表达 microRNA 的表达情况,验证 microRNA 芯片结果;相关 microRNA 抑制剂干扰后,分别进行胃癌细胞球形成实验、体外侵袭与耐药实验检测 microRNA 对人胃癌干细胞自我更新、侵袭、耐药能力的影响。[结果] 成功分离得到人胃癌干细胞 CD44(+) 亚群,其具有典型的肿瘤干细胞生物学特性:较强的自我更新能力、侵袭和耐药能力。与 CD44(-) 细胞亚群相比,人胃癌干细胞 CD44(+) 细胞亚群高表达 miRNAs 共有 17 个;低表达 miRNAs 共有 33 个。采用 qPCR 技术验证 microRNA 表达谱芯片相关结果,得到:CD44(+) 亚群中 miR-196a-5p、miR-155-5p、miR-30a、miR-30b、miR-30c 表达上调,miR-1246、miR-195-5b 表达下调。抑制相关高表达 microRNA (miR-196a-5p、miR-155-5p、miR-30a、miR-30b、miR-30c) 表达后,肿瘤干细胞的自我更新能力、侵袭和耐药能力均下降。[结论] 胃癌干细胞中具有多种差异表达 microRNA, microRNA 对胃癌干细胞生物学特性具有调控作用。

关键词: 胃癌干细胞;CD44;自我更新;侵袭;耐药

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2017)09-0733-07

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.09.A014

Differential Expression of MicroRNAs and Its Relation to Biological Characteristics in Gastric Cancer Stem Cells

PAN Yun-zhi, SHU Xiong, SUN Li-chao, et al.

(National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the differential expression of microRNAs and its relation to biological characteristics in gastric cancer stem cells (GCSCs). [Methods] The serum-free suspension culture and flow cytometry sorting technology were used to isolate human GCSCs. Biological characteristics of GCSCs were detected by sphere colony formation assay, invasion assay and drug resistance test *in vitro*. MiRNA microarray was performed to analyze differentially expressed microRNAs in GCSCs. Quantitative real time-PCR was used to verify results of miRNA microarray. After transfection of miRNA inhibitor, the changes of biological characteristics of GCSCs were examined. [Results] Human GCSCs were successfully isolated by using the serum-free suspension culture and fluorescence-activated cell sorting. Functional studies revealed that FAC-sorted CD44 (+) cells had characteristics of cancer stem-like cells. CD44 (+) cells formed more sphere colonies, showed higher invasiveness and stronger drug resistance than CD44 (-) cells. MiRNA microarray analysis illustrated that compared with CD44 (-) cells, there were 17 highly expressed microRNAs and 33 lowly expressed microRNAs in human GCSCs. Real-time PCR analysis verified the microarray data; the expressions of miR-196a-5p, miR-155-5p, miR-30a, miR-30b and miR-30c were up-regulated, and the expressions of miR-1246 and miR-195-5b were down-regulated in CD44 (+) cells. Transfection of miRNA inhibitor suppressed the self-renewal capacity, invasion ability and drug resistance ability in CD44(+) cells. [Conclusion] The differentially expressed microRNAs in human GCSCs may change its biological characteristics.

Key words: gastric cancer stem cell (GCSC); CD44; self-renewal capacity; invasion; drug resistance

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,其死亡率

在各种恶性肿瘤中位居第2位^[1]。手术、放疗和化疗是胃癌治疗的常用手段,虽然近年来上述治疗策略取得了很大进展,但患者的5年生存率仍很低^[2]。影

收稿日期:2017-02-13;修回日期:2017-03-13

通讯作者:冉宇靓,E-mail: ran_yuliang@126.com

响治疗效果的因素较多,其中肿瘤的复发、耐药、侵袭和转移最为重要。

肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是指在肿瘤组织中存在一小部分具有干细胞性质的细胞群,该类细胞具有自我更新和多向分化潜能,能维持肿瘤的形成及生长^[3,4]。肿瘤干细胞数目相对恒定,具有典型的生物学特性^[5-7]:①无限的自我更新能力;②多分化潜能;③高致瘤性;④高侵袭转移能力;⑤强耐药性。近年来不同肿瘤组织中肿瘤干细胞相继被分离出来如乳腺癌、恶性胶质瘤、前列腺癌、结肠癌、肝癌、胰腺癌等^[8-11]。国内外研究者通过侧群细胞法、表面标志物分选、无血清悬浮培养等多种途径成功分离了胃癌干细胞(gastric cancer stem cells, GCSCs)^[12,13]。此外,多种胃癌干细胞表面标志物被发现如 CD44、CD24、EpCAM、CD90、CD71、ALDH1 等。这些表面标志物对于胃癌干细胞的分离鉴定至关重要^[14-16]。胃癌干细胞表型功能和分子机制的不断深入研究,为胃癌的靶向治疗提供了新策略。

MicroRNA (miRNA) 是一类由内源基因编码的长度约为 21~25 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,能与特定的 mRNA 反义互补从而调控基因表达。大量研究表明,miRNA 在多种肿瘤干细胞中表达异常,对肿瘤干细胞的自我更新、生长增殖、侵袭迁移、耐药、凋亡等特性具有重要的调控作用^[17,18]。本研究重点探讨胃癌干细胞中差异表达的 microRNA,并进一步研究这些 microRNA 对胃癌干细胞生物学特性的调控作用。

1 材料与方法

1.1 细胞系和肿瘤干细胞的培养

SNU-5 和 BGC-823 细胞系购于中国科学院细胞库。细胞系使用含 10% FBS (Thermo Scientific, USA)、1% 谷氨酰胺、1% 青霉素-链霉素的 RPMI-1640 培养。无血清培养基 (SFM) 含 DMFM/F12、20μl/ml B27 supplement (Life Technologies)、20ng/ml 碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF, Gibco)、10ng/ml EGF (Gibco) 和 10ng/ml LIF (Gibco)。胃癌细胞系 SNU-5 和 BGC-823 经无血清悬浮培养 7d 可形成紧实的细胞球体。胃癌干细胞是使用无血清悬浮培养胃癌细胞系 SNU-5 和 BGC-823,通过流式细胞分选

技术分离所得。

1.2 流式细胞分选技术分离胃癌干细胞

采用无血清悬浮培养 SNU-5 和 BGC-823 细胞系,培养第 7d 时采用 FITC Mouse Anti-Human CD44 (BD Biosciences) 以 1:400 比例稀释抗体孵育细胞,然后 PBS 洗涤 2 次,采用流式细胞仪 (BD Biosciences) 分选 CD44(+) 和 CD44(-) 细胞。

1.3 MicroRNA 芯片和生物信息学分析

MicroRNA 芯片使用 Affymetrix GeneChip miRNA 2.0 platform,购于北京博奥生物生物技术有限公司。使用 TRIzol 试剂 (Invitrogen) 提取流式分选后所得的 CD44(+) 和 CD44(-) SNU-5 细胞 RNA。提取后的 RNA 经标记后与芯片杂交。采用 Affymetrix Expression Console 软件对数据标准化处理和分析。若表达量变化超过 2 倍,则视为该 miRNA 在胃癌干细胞中差异表达。使用 Targetscan (www.targetscan.org), microRNA (www.microrna.org) 和 PicTar (pictar.mdc-berlin.de) 对 microRNA 靶基因进行预测。使用 DAVID6.8 (<https://david.ncicrf.gov/>) 将基因绘制 KEGG 通路。

1.4 qRT-PCR

采用 mirVana miRNA isolation kit (Ambion) 提取流式分选后所得的 CD44 (+) 和 CD44 (-) SNU-5/BGC-823 细胞 RNA,具体操作为:收集细胞 2×10^6 个, PBS 洗 1 遍,加 400μl Lysis/Binding Buffer,剧烈振荡以破解细胞释放 miRNA;加入 1/10 体积的 miRNA Homogenate Additive 涡旋后在冰上放置 10min;加入和 Lysis/Binding Buffer 等体积苯酚和氯仿,涡旋混匀 30~60s 后,最大 9000g 离心,取上清于 1 个新 EP 管中;加入 1/3 体积的 100% 酒精到水相里涡旋充分混匀;把液体加到柱子里 15s, 9000g 离心 (9000rpm);收集滤液后添加 2/3 体积的 100% 室温酒精充分混匀,混合物第 2 次加入 1 个新的柱子离心 15s, 9000rpm, 后弃去滤液;用 700μl 的 miRNA Wash Solution 1 瞬时离心 5~10s;用 500μl miRNA Wash Solution 2/3 洗涤 2 次瞬时 5~10s;离心, 9000rpm 1min;加入 100μl 无 RNA 酶水,盖紧后最大速度离心 20~30s。

利用 Bulge-Loop miRNA qRT-PCR Primer Set 和 qRT-PCR Starter kit (锐博生物, 广州), 配置 miRNAs 的 qRT-PCR 反应体系, 反应体系为: 2X SYBR

Green Mix 10 μ l, RT Product 2 μ l, Bulge-LoopTM miRNA Forward Primer (5 μ mol/L) 0.8 μ l, Bulge-LoopTM Reverse Primer (5 μ mol/L) 0.8 μ l, RNase-free H₂O 补齐反应体系 20 μ l。反应条件为:预变性 95℃ 10 min,变性 95℃ 2s,退火 60℃ 30s,延伸 70℃ 10s, 40cycles。qRT-PCR 反应和信号检测在 ABI7500 real-time PCR system (Applied Biosystems)完成。以 U6 基因作为对照。

1.5 蛋白质印迹

采用 Subcellular Protein Fractionation Kit (Thermo Pierce)提取 CD44 (+) 和 CD44 (-) SNU-5/BGC-823 细胞总蛋白。具体步骤为:将待提取的细胞用冰冷 PBS 洗 3 次;根据获取的细胞数量加入适量的细胞裂解液 RAPI,冰上裂解 30min;4℃,12 000rpm 离心 30min;取上清于-70℃保存备用。

利用 BCA protein Assay Kit (Thermo Pierce)测定蛋白质浓度。具体操作为:将 BSA (Bovine Serum Albumin)标准品梯度稀释(0.0625~2mg/ml);取 25 μ l BSA 标准品,加入 200 μ l 稀释的 50:1 混合的 A+B 液;振荡混匀,37℃孵育 20min,用紫外分光光度计测 OD570 的吸收值,绘制蛋白定量的标准曲线;取待测蛋白样品,重复上述步骤,根据标准曲线算出相应蛋白浓度。

在蛋白样品提取、浓度测定后,分别制胶、上样、电泳、转膜、抗体孵育、曝光等步骤进行蛋白质印迹实验。其中所用到的一抗及稀释比例有:CD44 (Abcam, 1:5000);Sox2 (Cell Signaling Technology, 1:1000);Oct4 (Cell Signaling Technology, 1:1000);Nanog (Cell Signaling Technology, 1:1000);GAPDH (Cell Signaling Technology, 1:1000)。

1.6 MiRNA 抑制

MiRNA inhibitor 购于 RIBOBIO Co。使用不含抗生物素的无血清培养基稀释分选得到 CD44 (+) 和 CD44 (-) 细胞,以 1 $\times$ 10⁵ 个/孔接种于六孔板中,过夜培养。按照说明书要求,miRNA inhibitor 的终浓度为 60nmol/L,采用 lipofectamine 3000 (Invitrogen) 将 miRNA inhibitor 和阴性对照转染至相应细胞中。转染后 4h,加入无血清培养基。72h 后,收获细胞进行相应实验。

1.7 体外自我更新能力的分析

取分选得到细胞或者 miRNA 抑制剂处理后的

细胞,以 500 个/孔的密度接种于低黏附 24 孔板,用含 0.8% 甲基纤维素的无血清悬浮培养基培养,在 37℃、5%CO₂ 孵箱中培养,9d 后观察成球情况。

1.8 体外侵袭实验

取无血清培养基稀释后的 Matrigel 胶(1mg/ml) 50 μ l 平铺于 Transwell 小室的上室,放置 37℃培养箱 1h。然后将分选得到细胞或者 miRNA 抑制剂处理后的细胞以 1 $\times$ 10⁵/ml 密度,200 μ l/孔均匀加在 Matrigel 胶表面,Transwell 小室的下室加入含 10% 血清的 RPMI-1640 完全培养基。48h 后,割片、DAPI 封片。镜下观察结果。

1.9 体外耐药实验

取分选得到细胞或者 miRNA 抑制剂处理后的细胞,以 4000 个/孔的密度接种于 96 孔板,每组细胞均用含 0、0.5、1、1.5、2 μ mol/L 顺铂的培养基培养 7d,加入 CCK-8 试剂,检测波长 450nm 处的吸光度 (A)值,计算各组的半数抑制浓度 (IC₅₀)。

1.10 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计数资料的比较采用 χ^2 检验,计量资料的比较采用 *t* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 人胃癌干细胞的分离

采用无血清悬浮培养和表面标志物流式细胞分选术,检测并分选 SNU-5、BGC-823 sphere 细胞中 CD44(+)、CD44(-)细胞亚群。图 1 (Figure 1)可知分选 SNU-5 sphere 细胞中 CD44 (+) 阳性比例为 10.2%; BGC-823 sphere 细胞系中 CD44 (+) 阳性比例为 5.4%。

2.2 人胃癌干细胞生物学特性的研究

2.2.1 人胃癌干细胞自我更新能力的分析

甲基纤维素成球实验结果表明,在 SNU-5 sphere 细胞中 CD44 (+) 细胞亚群成球数明显高于 CD44(-) 细胞亚群。SNU-5 sphere 细胞中 CD44(+) 和 CD44(-) 细胞亚群成球数分别为 148.7 $\pm$ 1.9 和 52.7 $\pm$ 2.4 ($P<0.0001$);在 BGC-823 sphere 细胞中上述两细胞亚群成球数分别为 175.0 $\pm$ 1.2 和 93.3 $\pm$ 0.4 ($P=0.0001$),差异具有统计学意义 (Figure 2)。因此,人胃癌干细胞 CD44(+) 细胞亚群具有较强的自我更新

能力。

2.2.2 人胃癌干细胞侵袭能力的分析

体外侵袭实验表明,在 SNU-5 sphere 细胞中 CD44 (+) 细胞亚群侵袭细胞数明显高于 CD44 (-) 细胞亚群。SNU-5 中 CD44 (+) 细胞亚群侵袭细胞数 (175.3 ± 0.2) 是 CD44 (-) 细胞亚群侵袭细胞数 (82.7 ± 0.9) 的 2 倍,差异具有统计学意义 ($P=0.0002$)。相关实验结果在 BGC-823 细胞系也得到验证 ($P<0.0001$) (Figure 3)。因此,人胃癌干细胞 CD44 (+) 细胞亚群具有较强的侵袭能力。

2.2.3 人胃癌干细胞耐药能力的分析

顺铂耐药实验表明,同一顺铂浓度下,CD44 (+) 细胞亚群存活率较 CD44 (-) 细胞亚群高。当顺铂浓度分别为 $0.05 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.2 \mu\text{g/ml}$ 时,SNU-5 CD44 (+) 细胞亚群的存活率为:0.845、0.725、0.600,而 CD44 (-) 细胞亚群存活率分别为:0.705、0.575、0.410,3 个顺铂浓度下 P 值分别为:0.0407、0.0277、0.0136。在 BGC-823 细胞系中,当顺铂浓度为 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 时,CD44 (+) 细胞亚群的存活率为 0.740,CD44 (-) 细胞亚群存活率为 0.585, P 值为 0.0133,差异具有统计学意义 (Figure 4)。

2.3 人胃癌干细胞差异表达 microRNA 及其验证

采用北京博奥生物的 Affymetrix miRNA 芯片,对分

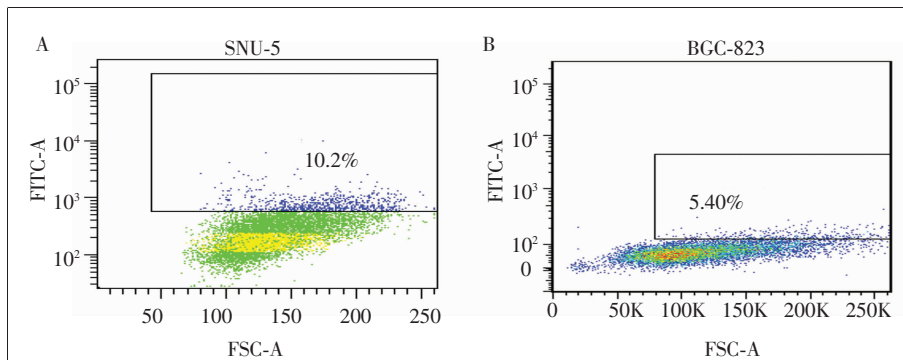
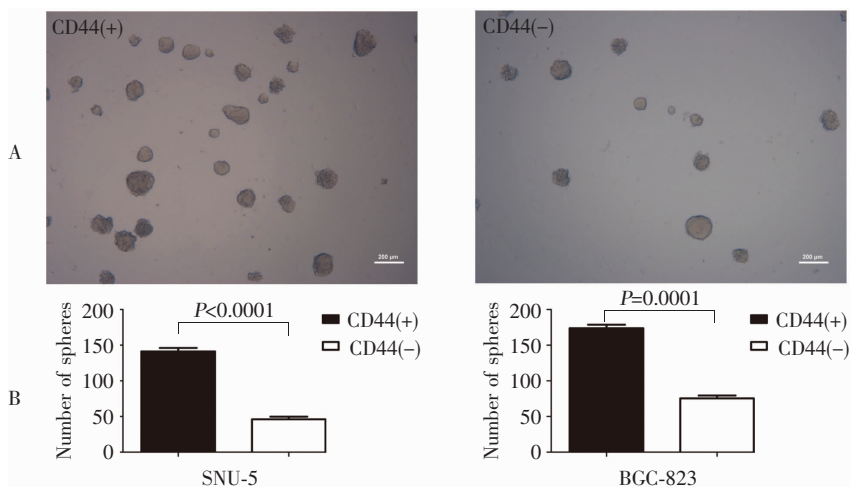
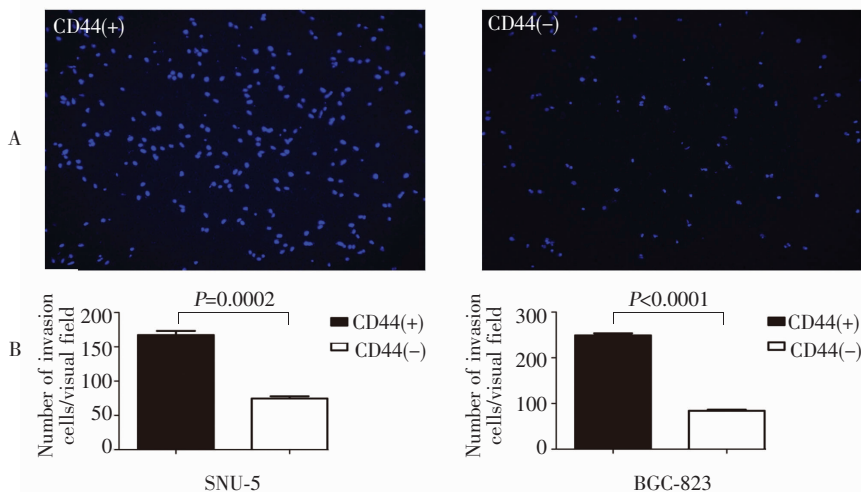


Figure 1 CD44 expression in SNU-5 and BGC-823 cells detected by FACS



A. Sphere formation abilities in CD44(+) and CD44(-) SNU-5 sphere cells;
B. Comparison of spheroid number in CD44(+) and CD44(-) SNU-5 and BGC-823 sphere cells.

Figure 2 Comparison of the self-renewal ability in CD44(+) and CD44(-) SNU-5 and BGC-823 sphere cells



A: The invasion capacity in CD44(+) and CD44(-) SNU-5 sphere cells;
B: Number of invasion cells in CD44(+) and CD44(-) and BGC-823 sphere cells.

Figure 3 Comparison of the invasion capacity in CD44(+) and CD44(-) SNU-5 and BGC-823 sphere cells

选后的 SNU-5 sphere 细胞中 CD44(+)和 CD44(-)细胞亚群进行分析。芯片结果表明:上调 microRNA 共有 17 个,下调 microRNA 共有 33 个。结合文献调研、相关 microRNA 研究现况及相关信号通路,我们采用 qPCR 技术对待研究的差异表达 microRNA 表达情况进行验证。实验结果可知:与 CD44(-)细胞亚群相比,CD44(+)亚群中 miR-196a-5p、miR-155-5p、miR-30a、miR-30b、miR-30c 表达上调(相应 P 值为 0.0004、0.0016、0.0039、0.0016、<0.0001),miR-1246、miR-195-5b 表达下调(相应 P 值为 <0.0001、0.0052),与 microRNA 表达谱芯片结果相符(Figure 5)。

2.4 MicroRNA 对胃癌干细胞生物学特性的调控作用

2.4.1 MicroRNA 对人胃癌干细胞自我更新能力的影响

基于 microRNA 表达谱芯片分析结果,我们对上述上调 microRNA 相关功能进行研究。SNU-5 sphere 细胞系中,对照组成球数为 169.5 ± 3.5 ,干扰 miR-196a-5p、miR-155-5p、miR-30a、miR-30b、miR-30c 表达后,甲基纤维素成球数分别为 63.5 ± 2.1 、 120.0 ± 1.4 、 108.5 ± 2.1 、 132.0 ± 2.8 、 116.0 ± 0.8 (相应 P 值为 0.0008、0.0029、0.0023、0.0072、0.0077)。同时,

BGC-823 sphere 细胞中也得到相似实验结果,差异均具有统计学意义(Figure 6)。因此,抑制 miRNA 表达后,人胃癌干细胞的自我更新能力均减弱。

2.4.2 MicroRNA 对人胃癌干细胞侵袭能力的影响

SNU-5 sphere 细胞系中,对照组侵袭细胞数为 187.0 ± 2.8 ,干扰 miR-196a-5p、miR-155-5p、miR-30a、

miR-30b、miR-30c 表达后侵袭细胞数分别为: 103.5 ± 2.1 、 164.0 ± 1.4 、 100.5 ± 3.5 、 138 ± 2.8 、 133.0 ± 4.2 (相应 P 值为 0.0009、0.0093、0.0014、0.0033、0.0044)。在 BGC-823 sphere 细胞系中,对照组侵袭细胞数为 217.0 ± 1.8 ,干扰 miR-196a-5p、miR-155-5p、miR-30a、miR-30b、miR-30c 表达后侵袭细胞数分别为: $128.0 \pm$

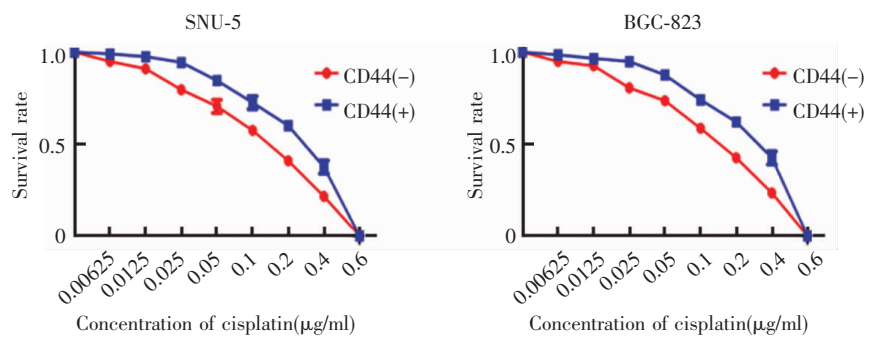


Figure 4 Comparison of the resistant ability in CD44(+) and CD44(-) SNU-5 and BGC-823 sphere cells

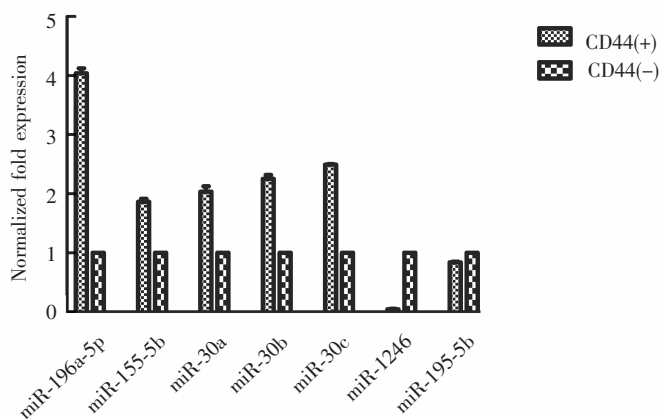


Figure 5 Verification of expressed microRNAs in CD44(+) and CD44(-) cells from SNU-5 sphere cells

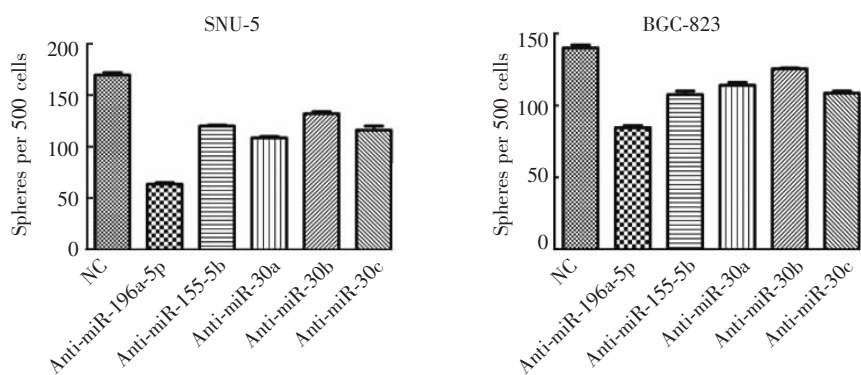


Figure 6 The effect of microRNAs on the self-renewal capability of GCSCs

2.1、168.0±3.4、136.5±1.5、166.5±1.8、150.0±2.1 (相应 *P* 值为 0.0016、0.0041、0.0014、0.0036、0.0040)(Figure 7)。因此,抑制 miRNA 表达后,人胃癌干细胞的侵袭能力均减弱。

2.4.3 MicroRNA 对人胃癌干细胞耐药能力的影响

耐药实验表明,SUN5 sphere 细胞系中抑制 miR-196a-5p、miR-155-5p、miR-30a、miR-30b、miR-30c 表达,相应 IC₅₀ 分别为 0.083、0.092、0.119、0.125、0.106,胃癌干细胞的耐药能力下降。此外,BGC-823 sphere 细胞系中,干扰相应 microRNA 表达后耐药能力均下降,差异均具有统计学意义(Figure 8)。

3 讨 论

胃癌是常见的恶性肿瘤之一,复发和转移是胃癌预后不佳的主要因素。肿瘤干细胞是指肿瘤内一群具有自我更新能力与不定向分化潜能的细胞,具有自我更新、无限增殖、高致瘤性、抵抗放化疗等生物学特性。目前,肿瘤干细胞的分离主要通过 3 种途径:侧群细胞法、无血清悬浮培养、利用表面标志物来分选。研究表明在胃癌组织和胃癌细胞系中均存有肿瘤干细胞,CD44 是胃癌干细胞的标志物之一。本研究通过无血清悬浮培养和胃癌干细胞标志物 CD44 流式分选技术相结合成功分离人胃癌干细胞。体外功能实验也证明分离得到的细胞具有典型的肿瘤干细胞生物学特性,即有较强的自我更新能力、侵袭和耐药能力。

多项研究证实 microRNA 在多种肿瘤干细胞中表达异常,有些表达上调发挥癌基因的作用,有些则表达下调发挥抑癌基因的作用。此外,microRNA 对肿瘤干细胞的生物特性和肿瘤发病机制中也起到重要作用。Yang 等^[19]研究表明 miR-146b-5p 通过靶向

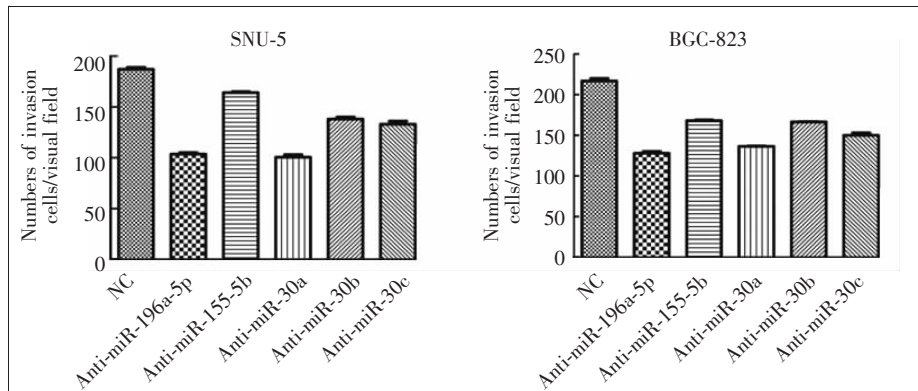


Figure 7 The effect of microRNAs on the invasive ability of GCSCs

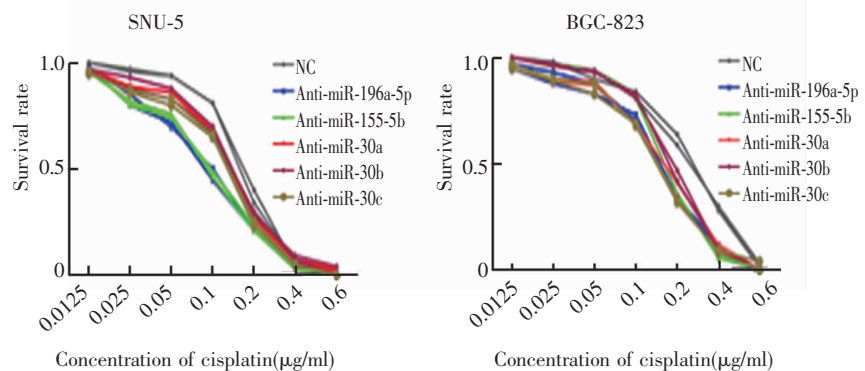


Figure 8 The effect of microRNAs on the resistant ability of GCSCs

HuR/lincRNA-p21/β-catenin 信号通路可减弱胶质瘤干细胞的干性和放射抵抗性,从而为胶质瘤的治疗带来新希望。在肝癌干细胞中 miR122 不表达或表达甚微,若重建其表达可通过 Smad/TGF-β 信号通路抑制肝癌干细胞的侵袭,减少复发^[20]。Chen 等^[21]在结肠癌干细胞中发现 miR-125a/b 过表达可显著抑制紫杉醇耐药的人结肠癌干细胞中醛脱氢酶 1 家族 A3(ALDH1A3)和 Mcl1 的表达,从而加速细胞凋亡。针对胃癌干细胞利用纳米技术介导 miR-34a 靶向运输可对胃癌进行治疗^[22]。

本研究中,以表达相差 2 倍以上作为划分标准,我们进行人胃癌干细胞 CD44(+) 与 CD44(-)细胞亚群 microRNA 表达谱差异的比较。芯片结果表明:上调 microRNA 共有 17 个,下调 microRNA 共有 33 个。在此基础上,结合文献调研和相关 microRNA 研究现况,我们重点分析了上调表达 microRNAs:miR-196a-5p、miR-155-5p、miR-30a、miR-30b、miR-30c;下调表达 microRNAs:miR-1246、miR-195-5b。采用

qPCR 技术对上述microRNAs 表达情况进行验证,结果与表达谱符合,证明 microRNA 表达谱结果可信。

体外功能实验结果表明,上述上调表达的 microRNAs 在胃癌干细胞的自我更新、侵袭和耐药等生物学特性上具有调控作用。miR-196-5p 对自我更新能力影响最大;miR-30a、miR-196-5p 对侵袭能力影响最大;miR-30c、miR-196-5p 对耐药能力影响最大。因此,胃癌干细胞中具有多种差异表达 microRNA,差异表达的 microRNA 对胃癌干细胞生物学特性具有调控作用。

综上所述,microRNA 在肿瘤干细胞的自我更新、增殖、分化及侵袭等方面起到重要作用。利用 RNA 干扰(RNAi)对异常表达的 microRNA 进行调控,从而间接调控肿瘤干细胞生物特性,以期对肿瘤进行干预。此外,不同的肿瘤干细胞存在特异的 microRNA,而在同一肿瘤干细胞的不同分化阶段也有特异的 microRNA 的表达。因此,探寻普通肿瘤细胞和肿瘤干细胞 microRNA 表达的差异,抑或发现肿瘤不同发展时期特异表达的 microRNA,都将促进肿瘤诊断、治疗新策略的发展。

参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65: 87-108.
- [2] Hartgrink HH, Jansen EP, van Grieken NC, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2009, 374: 477-490.
- [3] Ailles LE, Weissman IL. Cancer stem cells in solid tumors[J]. Curr Opin Biotechnol, 2007, 18: 460-466.
- [4] Wicha MS, Liu S, Dontu G. Cancer stem cells: an old idea—a paradigm shift [J]. Cancer Res, 2006, 66: 1883-1890, 1895-1896.
- [5] Okamoto K, Ninomiya I, Ohbatake Y, et al. Expression status of CD44 and CD133 as a prognostic marker in esophageal squamous cell carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy followed by radical esophagectomy [J]. Oncol Rep, 2016, 36: 3333-3342.
- [6] Yang YJ, Li ZB, Zhang GR, et al. Snail-induced epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinoma cells and generation of cancer stem cell characteristics [J]. Genet Mol Res, 2016, 15(3).doi: 10.4238/gmr.15038510.
- [7] Zhang Q, Feng Y, Kennedy D. Multidrug-resistant cancer cells and cancer stem cells hijack cellular systems to circumvent systemic therapies, can natural products reverse this? [J]. Cell Mol Life Sci, 2016, Sep12. [Epub ahead of print]
- [8] Birbrair A, Sattiraju A, Zhu D, et al. Novel peripherally derived neural-like stem cells as therapeutic carriers for treating glioblastomas [J]. Stem Cells Transl Med, 2016, Sep14. [Epub ahead of print]
- [9] Rinkenbaugh AL, Cogswell PC, Calamini B, et al. Ikk/nf-kappab signaling contributes to glioblastoma stem cell maintenance[J]. Oncotarget, 2016, 7: 69173-69187.
- [10] Templeton AK, Miyamoto S, Babu A, et al. Cancer stem cells: progress and challenges in lung cancer[J]. Stem Cell Investig, 2014, 1: 9.
- [11] Zhou F, Li X, Wang W, et al. Tracing haematopoietic stem cell formation at single-cell resolution [J]. Nature, 2016, 533: 487-492.
- [12] Song Z, Yue W, Wei B, et al. Sonic hedgehog pathway is essential for maintenance of cancer stem-like cells in human gastric cancer[J]. PLoS One, 2011, 6: e17687.
- [13] Yu D, Shin HS, Choi G, et al. Proteomic analysis of CD44 (+) and CD44 (-) gastric cancer cells [J]. Mol Cell Biochem, 2014, 396: 213-220.
- [14] Han ME, Jeon TY, Hwang SH, et al. Cancer spheres from gastric cancer patients provide an ideal model system for cancer stem cell research [J]. Cell Mol Life Sci, 2011, 68: 3589-3605.
- [15] Lee HH, Seo KJ, An CH, et al. CD133 expression is correlated with chemoresistance and early recurrence of gastric cancer[J]. J Surg Oncol, 2012, 106: 999-1004.
- [16] Lin T, Ding YQ, Li JM. Overexpression of nanog protein is associated with poor prognosis in gastric adenocarcinoma [J]. Med Oncol, 2012, 29: 878-885.
- [17] Sun H, Ding C, Zhang H, et al. Let7 miRNAs sensitize breast cancer stem cells to radiation induced repression through inhibition of the cyclin D1/Akt1/Wnt1 signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2016, 14: 3285-3292.
- [18] Wu K, Ma L, Zhu J. MiR4835p promotes growth, invasion and selfrenewal of gastric cancer stem cells by Wnt/beta-catenin signaling[J]. Mol Med Rep, 2016, 14: 3421-3428.
- [19] Yang W, Yu H, Shen Y, et al. MiR-146b-5p overexpression attenuates stemness and radioresistance of glioma stem cells by targeting hur/lincRNA-p21/beta-catenin pathway [J]. Oncotarget, 2016, 7: 41505-41526.
- [20] Boix L, Lopez-Oliva JM, Rhodes AC, et al. Restoring miR122 in human stem-like hepatocarcinoma cells, promotes tumor dormancy through smad-independent TGF-beta pathway[J]. Oncotarget, 2016, 7: 71309-71329.
- [21] Chen J, Chen Y, Chen Z. MiR-125a/b regulates the activation of cancer stem cells in paclitaxel-resistant colon cancer[J]. Cancer Invest, 2013, 31: 17-23.
- [22] Jang E, Kim E, Son HY, et al. Nanovesicle-mediated systemic delivery of microRNA-34a for CD44 overexpressing gastric cancer stem cell therapy [J]. Biomaterials, 2016, 105: 12-24.