Journal of Cell and Tissue 13(2), Summer (2022) 71-94

Journal of Cell and Tissue
http://jct.araku.ac.ir

Structural, cellular and molecular mechanisms involved in the Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Cancer

Moniri Javadhesari S[a*], Vaezi Heris H[b]

[a]Assistant Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.
[b]Master of Genetics, Department of Biology, School of Natural Science, Tabriz University, Tabriz, Iran

Original Article

Use your device to scan and read the article online

Citation: Moniri Javadhesari S, Vaezi Heris H. Structural, cellular and molecular mechanisms involved in the Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Cancer. Journal of Cell and Tissue . 2022; 13(2):71-94.

https://10.52547/JCT/13.2.71

KEYWORDS

Epithelial-Mesenchymal Transition, Carcinogenesis, Gene Expression Regulation, Tumor Microenvironment.

ABSTRACT

Aim: Cancer as one of the most common genetic diseases is the leading cause of death worldwide. Cancer cells undergo various genetic and phenotypic changes to spread and survive. In the early stages, these changes lead to the development of tumor, while at the advanced stages they can provide a suitable pre-metastatic microenvironment in which various uncontrolled events occur including cell proliferation, traversing through the extracellular matrix, and crossing barriers to enter the bloodstream. Extracellular changes in this microenvironment can induce intracellular changes in primary cancer cells that assist in the sustainability and propagation of these cells. Complicated interactions between the external and internal factors result in the establishment of various regulatory networks between different types of carcinogenesis promoting factors. Identification of these modifications plays a critical role in understanding the mechanisms of disease progression, prognosis and management.

Material and Methods: Various mutations and differential gene expression trigger metastasis of cancer cells by epithelial to mesenchymal transition (EMT) mechanism, among which the role of chromatin structural changes, intracellular signal transduction pathways, regulation of cell cycle and microRNAs, and genomic instability has been reported. The alterations in gene expression patterns of mentioned pathways lead to potential regulatory complications that faced the management of disease progression and response to therapies with problems.

* Corresponding author. Tel.: +98-41-31452061 ; Fax: 98-41-31452061
E-mail address: s.moniri@azaruniv.edu
DOI: https://10.52547/JCT/13.2.71
Received: August 2, 2021; Received in revised form: January 29, 2022; Accepted: March 2, 2022
Original Article
© Author

Cancer cells provide their requirements by neutralizing biological barriers, modifying the regulation of inhibiting processes of cancer progression, establishing de novo endogenous mechanisms and providing specialized molecular and structural markers, and various combinations of these methods have been demonstrated in different types of cancer. Furthermore, EMT and cancer stem cells (CSCs) have a mutual relationship in which the presence of one assists the occurrence of the other. Altogether, cancer cells take the advantage of multiple approaches including upregulation of main transcription factors such as snail, slug, Foxc2, Twist and ZEB1/2, benefiting the mechanisms of telomere length protection, production of CD133,CD44 and BMI1 biomarkers, mutation in P53 coding gene, Failure in acquiring aging phenotype, mutation in amino acid residue S115 of SIM2S gene and increased genomic instability, enhanced activity of signaling pathways such as NF-κB, TGF-β, Wnt, Notch and Hh, mitotic rounding process, facilitated cell division, epigenetic changes such as acetylation and methylation of histones and dysregulation of miRNAs.

Conclusion: EMT plays a crucial role in cancer progression, crossing the cells through the biological and body barriers, and metastasis that are usually associated with poor prognosis of cancer patients. Molecular and cellular changes in the main pathways of cells, development are considered as the promoting factors of EMT and resulted from the differential expression of genes in EMT compared to the normal phenotype of cells. Advancement in the exploration of these changes and their role in the progression of cancer can remarkably affect the early diagnosis, treatment and management of disease.

سلول و بافت، دوره ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱، صفحات۷۱ تا ۹۴

سلول و بافت

مکانیسمهای ساختاری ،سلولی و مولکولی در گذر از حالت اپیتلیال به مزانشیمال در سرطان

سولماز منیری جوادحصاری[۱*] ، هلاله واعظی هریس[۲]

[۱] استادیار ژنتیک مولکولی، دانشگاه شهیدمدنی آذربایجان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی

[۲] کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه زیست شناسی جانوری

واژگان کلیدی

گذر از اپی‌تلیالی به مزانشیمی، سرطانزایی، تنظیم بیان ژن‌ها، ریزمحیط تومور

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۱

چکیده

مقدمه: سرطان به‌عنوان یکی از رایج‌ترین بیماری‌های ژنتیکی و مهم‌ترین عامل مرگ و میر افراد در سراسر جهان به شمار می‌رود. سلول‌های سرطانی جهت گسترش و حفظ بقای خود دچار تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی مختلفی می‌شوند که در مراحل ابتدایی منجر به پیشرفت تومور و در مراحل پیشرفته منجر به فرآهم آمدن ریزمحیط پیش‌متاستازی مناسب می‌گردد. در چنین محیطی وقایع کنترل نشده نظیر تکثیر سلول‌ها و مهار آپوپتوز، حرکت از طریق ماتریکس خارج سلولی و عبور از موانع ورود به جریان خون رخ می‌دهند. تغییرات خارج سلولی در این ریزمحیط با القای تغییرات درونی سلول‌های آغازین سرطان به پایداری و تقویت آن‌ها کمک نموده و ارتباطات پیچیده بین عوامل خارجی و داخلی باعث برقراری شبکه‌های تنظیمی پیچیده بین انواع فاکتورهای پیش‌برنده‌ی سرطان‌زایی می‌شود. شناسایی این تغییرات در درک مکانیسم‌های پیشرفت بیماری، پیش آگهی و کنترل سرطان نقش اساسی ایفا می‌کند. **متن:** جهش‌های ژنی مختلف و تغییرات بیان ژن‌ها باعث شروع متاستاز از طریق تغییر شکل از حالت اپی‌تلیالی به مزانشیمی(EMT) سلول‌های سرطانی می‌گردد که دراین‌میان، نقش تغییرات ساختاری کروماتین، مسیرهای مختلف پیام‌رسانی داخل سلول، تنظیم چرخه‌ی سلولی، میکروRNAها و ناپایداری ژنومی تا حدی شناسایی شده است. تغییرات بیانی ژن‌های موثر در این مسیرها پیچیدگی‌های تنظیمی بالقوه‌ای را سبب می‌شوند که کنترل پیشرفت بیماری و پاسخ به درمان آن را با مشکل مواجه می‌سازد. سلول‌های سرطانی نیازمندی‌های خود را از طریق بی‌اثر کردن موانع طبیعی، تغییر در کنترل فرآیندهای بازدارنده‌ی پیشرفت سرطان، برقراری مکانیسم‌های نوظهور درون‌زاد و ایجاد مارکرهای مولکولی و ساختاری تخصص‌یافته فرآهم می‌کنند که مجموعه‌های مختلفی از این رویدادها در انواع مختلف سرطان‌ها شناسایی شده‌اند. ارتباط متقابل میان EMT و سلول‌های بنیادی سرطانی (CSCs) نیز وجود دارد که حضور هر یک از آن‌ها رخداد دیگری را تقویت می‌نماید. افزایش بیان فاکتورهای رونویسی اصلی مانند snail، slug، Foxc2، Twist و ZEB1/2، به‌کارگیری مکانیسم‌های حفاظت طول تلومرها، تولید بیومارکرهای CD133، CD44 و BMI1، جهش‌های ژن کد کننده‌ی P53، عدم کسب فنوتیپ پیری، جهش در باقی‌مانده‌ی S115 از ژن SIM2S، افزایش ناپایداری ژنومی، افزایش فعالیت مسیرهای پیام‌رسانی نظیر NF-κB، TGF-β، Wnt، Notch و Hh، فرآیند گرد شدن میتوزی، تسهیل تقسیم سلول‌های توموری، تغییرات اپی‌ژنتیکی مثل استیلاسیون و متیلاسیون هیستون‌ها، و تغییرات بیانی

* نویسنده مسئول؛ تلفن:۳۱۴۵۲۰۶۱ -۰۴۱، فکس: ۰۴۱۳۱۴۵۲۰۶۱

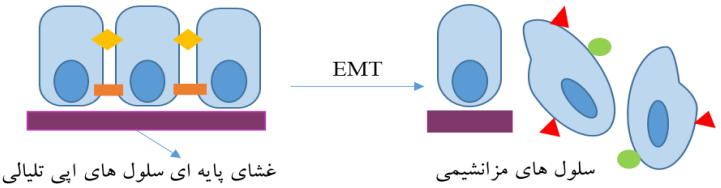
آدرس پست الکترونیک s.moniri@azaruniv.edu

میکرو RNAها مثال‌هایی از روش‌های به‌کار رفته توسط سلول‌های سرطانی هستند. **نتیجه‌گیری:** تغییر از حالت اپی‌تلیال به مزانشیمال نقش کلیدی در پیشرفت سرطان، گذر سلول‌ها از موانع بیولوژیکی و سدهای بدن و متاستاز ایفا می‌کنند که معمولا با پیش‌آگهی وخیم در بیماران سرطانی همراه است. تغییرات مولکولی و سلولی در مسیرهای اصلی تکوین سلول‌ها از عوامل پیش‌برنده‌ی EMT به شمار می‌روند که در اثر بیان متمایز ژن‌ها در EMT نسبت به شرایط نرمال سلول‌ها ایجاد می‌گردند. پیشرفت در شناسایی این تغییرات و نقش هر یک از آنها در پیشرفت سرطان می‌تواند تاثیر قابل توجهی در تشخیص زودهنگام، درمان و مدیریت سرطان داشته باشد. **هدف:** در این مقاله‌ی مروری، عوامل مولکولی و سلولی مختلف درگیر در مسیرهای پیام‌رسانی، تغییرات ساختاری کروماتین و تلومرها، تغییرات بیانی RNAهای غیر کدکننده‌ی کوچک مثل miRNAها، تغییرات چرخه‌ی سلولی و ناپایداری ژنومی که منجر به تنظیم پیشرفت EMT و سرطان می‌شوند، مورد بررسی قرار گرفته است.

۱- مقدمه

سرطان به‌عنوان دومین عامل مرگ در سراسر جهان در نظر گرفته می‌شود (۱). ایجاد سرطان شامل مجموعه‌ای از وقایع است که اغلب با سلول‌هایی شروع می‌شود که به‌دلیل تجمع جهش‌های منجر به تکثیر خارج از کنترل، کنترل رشد آن‌ها، از دست رفته است. این جهش‌ها شامل تغییرات ژن‌هایی نظیر انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌کننده‌ی تومور است که در مکانیسمهای سلولی و مولکولی مختلف درگیر در فرآیندهای تکثیر، حرکت و مهاجرت سلولی نقش دارند. متاستاز یکی از عوامل اصلی شروع و پیشرفت سرطان محسوب می‌شود و مسئول بیش از ۰۹ درصد مرگ‌های مرتبط با سرطان می‌باشد (۲و ۳).

معمولا تغییر بیان ژن‌های مرتبط با فرایندهای اساسی سلول نظیر کنترل چرخه‌ی سلولی، ترمیم اشتباهات DNA، تمایز و آپوپتوز در بافت‌های سرطانی در مقایسه با بافت‌های نرمال بیماران رخ می‌دهد و گزارشات متعددی از نقش بیان متمایز این ژن‌ها در ایجاد، گسترش، متاستاز و پیش‌آگهی سرطان‌ها وجود دارد. داده‌ها نشان می‌دهند که هر چه الگوی بیان ژن‌ها از وضعیت تکوین طبیعی سلول‌ها تبعیت نماید و تغییرات بیان ژن‌ها اندک باشد، پیش آگهی بیماری مطلوب‌تر بوده و احتمال متاستاز کمتر خواهد بود. در مقابل، با تغییر قابل توجه در الگوی بیان ژن‌ها نسبت به حالت نرمال، پیش‌آگهی وخیم‌تر بوده و احتمال متاستاز افزایش خواهد یافت (۶-۴). سلول‌های سرطانی مکانیسم‌های داخلی و خارجی جهت ایجاد و برقراری یک ریزمحیط پیش‌متاستازی مناسب برای خود دارند. تغییر شکل سلول‌ها از حالت اپی‌تلیالی به مزانشیمی (EMT) یکی از مکانیسم‌های داخلی مورد نیاز برای برقراری ریزمحیط پیش‌متاستازی است و علاوه بر نقش در متاستاز، در تکوین طبیعی جنین و فیبروز بافتی نقش ضروری ایفا می‌کند (۳و ۷). سلول‌های اپی‌تلیالی طی EMT مجموعه‌ای از تغییرات فنوتیپی را نشان می‌دهند که شامل از دست دادن قطبیت سلولی و ارتباط با غشای پایه‌ای، به‌دست آوردن پروتئین‌های مزانشیمی، کسب توانایی مهاجرت بالا، توانایی تخریب ماتریکس خارج سلولی و فعالیت ضد آپوپتوزی می‌باشد (۸) (شکل۱).



شکل ۱: نمای شماتیک EMT. سلول‌های اپی‌تلیالی ارتباط خود را با غشای پایه‌ای از دست داده و با تخریب ماتریکس خارج سلولی از هم جدا و قادر به مهاجرت شده‌اند. همچنین پروتئین‌های جدیدی نظیر پروتئین‌های مزانشیمی یا ضدآپوپتوزی را بیان می‌کنند.

فاکتورهای رونویسی القاکننده‌ی EMT شامل Snail1، Slug، ZEB1/2، Twist، Foxc2، TCF4 و E47 در این فرآیندها دخیل هستند. بیان چنین فاکتورهایی می‌تواند از طریق پیام‌رسان‌های خارج سلولی مثل ECM و فاکتورهای رشد قابل حل مثل TGF-β، پروتئین‌های Wnt و Notch یا از طریق عوامل درون سلولی مثل Ras یا پیام‌رسانی NF-κB راه‌اندازی شود ۸و۹). فاکتورهای رونویسی درگیر در EMT منجر به خاموش‌سازی ژن‌های اپی‌تلیالی نظیر ژن‌های درگیر در اتصالات سلولی مثل E-کادهرین، دسموزوم‌ها و اکلودین‌ها و نیز باعث بیان ژن‌ها و مارکرهای مشابه با CSCs می‌شود که نشان می‌دهد فعالیت EMT در ایجاد CSCs درگیر هست (۳). CSCs زیر مجموعه‌ای از سلول‌های سرطانی می‌باشند که ویژگی‌های مشابه با سلول‌های بنیادی طبیعی را مثل خود تجدیدی و تمایزناهمگن به اشتراک می‌گذارند و به‌دلیل همین تشابهات، مارکرهای سطحی مرتبط با سلول‌های بنیادی طبیعی مثل CD133 ، CD44 و CD90 را بیان می‌کنند (۲). این سلول‌ها نقش کلیدی را در شروع و گسترش سرطان بازی می‌کنند. وقوع فرآیند EMT ارتباط بالایی با CSCs و گسترش سرطان دارد. عوامل مختلفی نظیر فاکتورهای موجود در ریزمحیط تومور مثل فیبروبلاست‌های مرتبط با سرطان (CAFs) و ماکروفاژهای مرتبط با تومور (TAMs)، پیری سلولی و هیپوکسی باعث القای EMT در CSCs می‌شود (۲و ۸). به‌طور خلاصه EMT توان متاستازی را افزایش داده و در فراگیر شدن فنوتیپ‌های CSC شرکت می‌نماید. در این مقاله‌ی مروری تغییرات مولکولی در سطح مسیرهای پیام‌رسانی، miRNAها، چرخه‌ی سلولی و ناپایداری ژنومی و نیز تغییرات ساختاری سلولی مثل تغییرات در نواحی تلومری و کروماتین در ارتباط با EMT مورد بررسی قرار می‌گیرد. ما در این مقاله‌ی مروری، به بیان چگونگی اثر فاکتورهای مولکولی مختلف و تغییرات سلولی ویژه در پیشبرد EMT خواهیم پرداخت.

۲- مواد و روش‌ها

ما در این مطالعه با بهره‌گیری از مطالب علمی بیان شده در مقالات معتبر سال‌های اخیر به بیان مکانیسم‌های مختلف درگیر در پیشرفت فرآیند EMT و درنتیجه سرطان پرداخته‌ایم. تنظیم سلولی و مولکولی فرآیند EMT براساس یافته‌های علمی در زمینه‌ی سرطان‌های مختلف بیان شده است. لذا، با هدف قرار دادن مطالب مرتبط با عوامل مختلف درگیر در انواع سرطان‌ها، به وجود ویژگی‌های ژنتیکی و پیچیده‌ی سلول‌های سرطانی و تنظیم عملکرد آن‌ها پرداخته‌ایم. به‌کارگیری چنین روشی در بررسی اطلاعات مرتبط با فرآیند EMT می‌تواند در پی بردن به نیازمندی‌های علمی بیشتر در زمینه‌ی پیشرفت سرطان کمک شایانی کند.

۳- نتایج

۱) مسیرهای پیام‌رسانی

EMT به‌عنوان یک مکانیسم درونی جهت فراهم کردن ریزمحیط پیش‌متاستازی باعث توسعه‌ی ویژگی‌های سلول بنیادی در سلول‌های توموری می‌شود. ارتباط بین سلول‌های توموری دارای ویژگی سلول بنیادی یا CSCs و فرآیند EMT توسط بیومارکرهای EMT طی مسیرهای پیام‌رسانی مختلف شامل Wnt، TGF-β، NF-κB، Notch و Hh تنظیم می‌شود. مسیرهای

پیام‌رسانی یکی از موارد تغییرات مولکولی طی فرآیند EMT هستند که می‌توانند تحت تأثیر عوامل مختلف فعال شوند و بد تنظیمی آنها به توسعه‌ی CSCs منجر می‌شود. این مسیرها نقش خود را در فرآیندهای مختلفی همچون شروع تومور (۸)، رشد سلولی (۸ و۱۰-۱۲)، تمایز (۸و۱۰)، حرکت و تهاجم (۸ و۱۰-۱۲)، توانایی خود تجدیدی (۱۰) و فعالیت‌های ضد آپوپتوزی (۱۱) ایفا می‌کنند. وجود فاکتورهای عملکردی و تنظیمی مختلف در مسیرهای پیام‌رسانی طی پیشرفت تومورها نقش احتمالی ارتباطات بین مسیرهای پیام‌رسانی مختلف را بیان می‌کند که می‌توانند باعث ایجاد شبکه‌های تنظیمی پیچیده‌ای طی پیشرفت تومور شوند. نمونه‌ای از ارتباطات بین مسیرهای پیام‌رسانی، میانکنش بین دو مسیر پیام رسانی Hh و Wnt/β-Catenin می‌باشد که اثر متقابل آن‌ها می‌تواند باعث تنظیم هر دوی مسیرهای EMT و CSC از طریق افزایش فاکتورهای رونویسی اصلی مثل Snail، Slug، ZEB1/2، Twist و Foxc2 و مارکرهای سلول بنیادی مثل BMI1، CD44 و CD133 شود (۱۰). Snailها یکی از مهم‌ترین فاکتورهای رونویسی درگیر در فرآیند EMT هستند که تعداد زیادی از جنبه‌های مورفولوژیکی و مولکولی آن را در بر می‌گیرند. خانواده‌ی Snails از سه پروتئین مختلف Snail1، Snail2 و Snail3 تشکیل شده است. بیشتر مطالعات در ارتباط با EMT بر روی نقش Snail1 و Slug صورت گرفته است. این پروتئین‌ها از طریق فسفریله شدن و یوبی‌کوئیتینه شدن پایدار شده و از طریق فاکتورهای مختلف طی مسیرهای پیام‌رسانی و RNAهای غیر کد کننده‌ی کوچک مثل miRNAs تنظیم می‌شوند. در برخی مطالعات ارتباطات عملکردی و پیشبرنده‌ی EMT بین Snail1 و Slug دیده شده است (۱۳). این فاکتورها از طریق تنظیم بیان ژن‌های MMP، N-کادهرین، ویمنتین، فیبرونکتین، E-کادهرین، ESRP و ... فرآیندهای مختلف درگیر در EMT را به‌راه می‌اندازند (۱۶-۱۴). القای حالت بنیادی، تنظیم حفظ طول تلومرها، فعالیت‌های ضد آپوپتوزی، تنظیم فرآیندهای اپی‌ژنتیکی مثل متیلاسیون هیستونی، افزایش تکثیر سلولی و تهاجم از جمله فعالیت‌های بالقوه‌ی Snailها می‌باشند (۱۳). مطالعات مختلف روی انواع سرطان‌ها، مسیرهای پیام‌رسانی متنوع و فاکتورهای مولکولی متعدد درگیر در این مسیرها را در وقوع EMT آشکار کرده‌اند (جدول۱).

۲) تلومر و کروماتین:

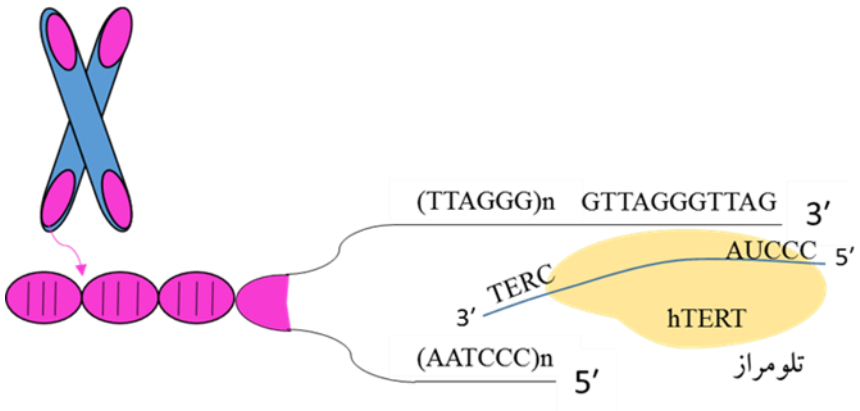
کروموزوم‌ها به‌عنوان حاملین اطلاعات ژنتیکی سلول دارای انتهاهایی با ساختارهای تخصص‌یافته به‌نام تلومر هستند. تلومرها کمپلکس‌های نوکلئوپروتئینی متشکل از توالی‌های تکراری TTAGGG پشت سرهم و کمپلکس محافظ تلومر شامل TRF1، TRF2، POT1، TPP1،TIN2 و RAP1 هستند و به‌عنوان یکی از مراحل ضروری در پیشرفت سرطان نقش ایفا می‌کنند (۳۲و۳۳). نقش مهم پروتئین‌های کمپلکس محافظ در تلومرها، محافظت تلومرها از تخریب، نوترکیبی و نیز فعالیت پاسخ آسیب DNA (DDR) می‌باشد (۳۳و۳۴). سلول‌های سرطانی زیرمجموعه‌ای از سلول‌ها بوده که نیازمندِ ماندن در چرخه‌ی سلولی هستند. این سلول‌ها با توانایی حفظ DNAی تلومری، کوتاه شدن تلومرها و آپوپتوزیس یا پیری ناشی از آن را که در چرخه‌های سلولی طبیعی رخ می‌دهد، بی‌اثر کرده و درنهایت به توانایی همانندسازی نامحدود منجر می‌شوند (۳۲و۳۵). سلول-های سرطانی از طریق مکانیسم‌های حفاظت تلومر (TMMs) به دو صورت وساطت شده با تلومراز و نیز مکانیسم طویل شدن متناوب طول تلومر (ALT)، قادر به حفظ طول تلومرها هستند (۳۴و۳۵). درصد بالایی از فعالیت مکانیسم ALT در تومورهای با منشا مزانشیمی دیده شده است و احتمالا وجود تنظیم منفی بیان تلومراز در این بافت‌ها، عامل اصلی پیش‌برنده‌ی سلول‌ها به سمت فعال کردن مکانیسم ALT باشد. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اندکه EMT در طی پیشرفت تومور می-تواند در غلبه کردن بر فرآیند پیری سلولی به سلول‌ها کمک کند ۳۵و۳۶). اما، به‌طور کلی، فعالیت بالای تلومراز در اکثر موارد تومورهای انسانی مشاهده شده است (۳۲). طبقه‌بندی تومورهای دارای مکانیسم‌های حفاظتی تلومرها به دو صورت TEL+ و ALT+ نادرست است؛ چراکه وجود هر دو مکانیسم در برخی از سرطان‌ها، توانایی تغییر یک مکانیسم به مکانیسم دیگر و نبود هیچ‌کدام از مکانیسم‌های حفظ طول تلومر در بعضی از تومورها مشاهده شده است (۳۵). امروزه مطالعاتی که ویژگی‌های مولکولی تغییر از تلومراز به ALT را تعیین کنند، نادر هستند، با این‌حال به برخی از نقایص مولکولی مرتبط با تعویض مکانیسم تلومراز به ALT اشاره خواهیم کرد (۳۵و۳۷). از جمله مارکرهای شناخته شده‌ی ALT می‌توان به طول ناهمگن تلومر، سطح بالای تبادلات کروماتیدهای خواهری تلومری (T-SCEs)، تکرارهای DNA تلومری مازاد بر طول کروموزوم و یک ساختار هسته‌ای تلومری تخصص‌یافته که تحت‌عنوان اجسام PML مرتبط با ALT یا APBs مطرح شده‌اند، اشاره کرد (۳۳و۳۵).

جدول۱: مسیرهای پیام‌رسانی مختلف و تأثیر آن‌ها بر پیشرفت EMT

رفرنس	مسیر پیام-رسانی	تاثیرفاکتورها بر EMT	فاکتورهای هدف	فاکتور موثر	نوع سرطان
۱۷-۱۹	Wnt	تنظیم منفی EMT	↓ویمنتین، فیبرونکتین، *Snail*، *MMP-7* ، *N*-کادهرین ↑ *E*-کادهرین، *β1*-اینتگرین	↓FZDs	-
۲۰-۲۲	Wnt	تنظیم منفی EMT	↓*β*-کاتنین، *c-Myc* ، *CyclinD1*	IQGAP1↓	پانکراس
۲۲	Wnt	تنظیم مثبت EMT	↓*E*-کادهرین	IQGAP1↑ ، Cdc42 ،Rac1	پانکراس
۱۴و۲۳و۲۴	Wnt	تنظیم مثبت EMT	↑*CD44*، *L1CAM* ↓*E*-کادهرین: ↑*LGR5*، *SMOC2*، *IGFBP2*	NUSAP1↑، RanBP2 لیگاز E3	پروستات
۸	TGF-β	تنظیم مثبت EMT	↓*E*-کادهرین، اکلودین، سیتوکراتین ↑ویمنتین، فیبرونکتین، *N*-کادهرین، *Snail*، *Slug*، *ZEB*، *Twist*، *NF-κB*، *MMP-13*	TGF-β↑	-
۱۵	TGF-β	تنظیم مثبت EMT	فعال‌سازی مسیرهای: Cdc42/Rac/RhoA PI3K/AKT/mTOR MAPK ↓*E*-کادهرین ↑*N*-کادهرین، *MMPs*، *Snail1*، *Snail2*	TGF-β↑	-
۲۵	TGF-β	تنظیم مثبت EMT	↓*PTEN*: ↑*PI3K/AKT*، *Slug*، *EPCAM*	EPCAM↑	NPC نازوفارنکس
۱۶و۲۶	TGF-β	تنظیم مثبت EMT	↓*ESRP1* ↑*CD44s*،*PI3K/AKT/mTOR* ،*Snail* *MMPs*	TGF-β↑، CD44	-
۲۷	NF-κB	تنظیم مثبت EMT	↓*E*-کادهرین ↑ویمنتین، *Slug*، *MMPs*، *CXCR4*	TNF-β↑	کلورکتال
۲۸	NF-κB	تنظیم مثبت EMT	↓*E*-کادهرین ↑ویمنتین، *Slug*، فیبرونکتین	SDF1	پستان
۸و۱۵ ۲۹-۳۱	Hh	تنظیم مثبت EMT	↓*E*-کادهرین ↑*BMP*، *Snail1*، *β*-کاتنین	GLI ،Hh	-

ساختار هسته‌ای APBs از بخش‌های تلومری DNA، پروتئین‌های کمپلکس محافظ تلومر، فاکتورهای ترمیم DNA و پروتئین‌های کروماتین تشکیل شده است (۳۶-۳۴). مطالعات زیادی روی انواع سرطان‌ها حاکی از نقش وقایع سلولی-مولکولی و کروماتینی مختلف در فعالیت ALT طی پایداری سلولی و گسترش سرطان هستند. یکی از فاکتورهای درگیر

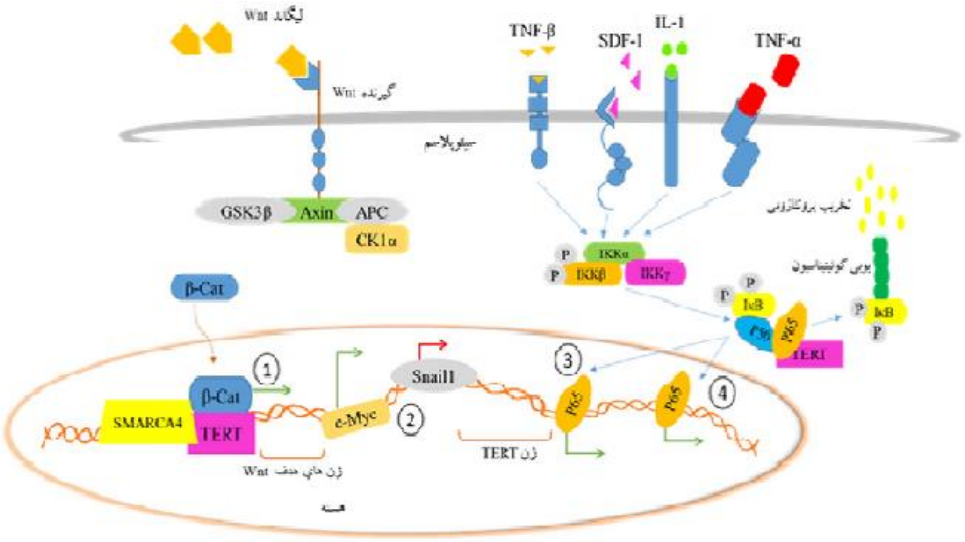
در مکانیسم ALT، کمپلکس ATRX/DAXX هست که به‌عنوان مهارکننده‌ی کلیدی این مسیر شناخته شده است (۳۵و۳۸). زمانی که ATRX عملکرد خود را از دست میدهد، تغییراتی مثل افزایش رونویسی جزء RNA تلومراز یا TERRA، تشکیل و پایداری ساختارهای چهارگانه در تلومر، ممانعت از پیشرفت چنگال همانندسازی، افزایش احتمالی چنگال‌های همانندسازی متوقف شده، شکست‌های دو رشته‌ای القا شده با متلاشی شدن چنگال همانندسازی و نوترکیبی در نواحی تلومری اتفاق می‌افتد (۳۳و۳۵). دومین فاکتور مهم درگیر در مکانیسم ALT، نقص فاکتورهای ASF1a و ASF1b است که منجر به ناپایداری نوکلئوزوم‌ها در تلومر، تغییر مدل‌سازی کروماتین و القای فرآیند ALT می‌گردد. از آنجائی‌که مکانیسم ALT جهت حفظ طول تلومرها طی گسترش سرطان بر اساس سنتز DNA تلومری وابسته به نوترکیبی هومولوگ اتفاق می‌افتد، تغییرات چندین فاکتور کروماتینی می‌تواند در ایجاد یک کروماتین بیشتر باز شده و در دسترس برای پروتئین‌های HR در تلومرها نقش داشته باشد (۳۵-۳۳). مسیر نوترکیبی هومولوگ با ترمیم انتهاهای کروموزومی از نوع شکست‌های دو رشته‌ای DNA، زمینه‌ی فراخوانی کمپلکس تبادلگر کروماتیدهای خواهری تحت‌عنوان MRN را به نواحی تلومری فراهم می‌کند (۳۴). از این‌رو سلول‌های اجرا کننده‌ی ALT در پاسخ به آسیب DNA، توانایی فرار از فرآیندهای آپوپتوزیس و پیری سلولی را کسب می‌کنند. از طرفی، اغلب سلول‌های دارای مکانیسم ALT جهش-هایی را در ژن کدکننده‌ی P53 حمل می‌کنند. نبود P53 عملکردی از کسب فنوتیپ پیری سلولی جلوگیری کرده و با ایجاد فعالیت ALT، به تکثیر سلولی و در نتیجه افزایش فشار همانندسازی منجر خواهد شد. به‌طورکلی، جهش‌های P53 به‌عنوان پایه و اساس میزان بالای ناپایداری ژنومی در سلولهای دارای فعالیت ALT در نظر گرفته می‌شود (۳۴و ۳۶). فاکتور مهم دیگر در حفظ طول تلومر کارکرد تلومراز می‌باشد. تلومراز یک هترودایمر ریبونوکلئوپروتئینی متشکل از یک الگوی RNAی غیر رمزگذار (جزء RNAئی تلومراز یا TERC) برای سنتز توالی‌های DNA تلومری جدید و یک زیرواحد آنزیمی تحت‌عنوان ترانس کریپتاز معکوس تلومراز (TERT) می‌باشد. آنزیم تلومراز با الگو قرار دادن جزء RNAئی، تکرارهای تلومری را به انتهای ′3 کروموزوم اضافه کرده و طول تلومرها را از کوتاه شدن حفاظت می‌کند (۳۵و۳۹) (شکل۲).



شکل ۲: عملکرد تلومراز. مکمل شدن بازهای انتهای′5 TERC و انتهای ′3 تلومری باعث تشکیل رشته‌ی غنی از سیتوزین (C) در DNA شده و از کوتاه شدن تلومرها جلوگیری می‌کند.

به‌طور طبیعی، سرکوب بیان زیرواحد TERT در سلول‌های سوماتیکی بالغ به محدود شدن فعالیت تلومرازی و محدودیت عمر این سلول‌ها منجر می‌شود. اما، بیان بالای TERT و فعالیت تلومرازی افزایش یافته در ۸۵ تا ۹۰ درصد همه‌ی سرطان‌ها به‌دلیل جهش‌هایی در پروموتور TERT مشاهده شده است که باعث مهار پاسخ آسیب DNA تلومری و تکثیر سلول‌ها و پایدار ماندن

آن‌ها می‌گردد. بیان بالای TERT و فعالیت تلومرازی افزایش یافته در سلول‌های بنیادی جنینی و چند توان نیز به خصوصیات فناناپذیری سلول‌های مذکور اشاره دارد (۳۲و۳۹). نقش جهش‌های C288T و C250T به‌عنوان جهش‌های پروموتری رایج TERT، همچنین مکانیسم‌های متنوع القای بیان TERT نظیر شبکه‌های تنظیمی بسیار پیچیده شامل مهارکننده‌های رونویسی(E2F1، MAD1، SP3 و ...) و فعال کننده‌های رونویسی(c-Myc، β-Catenin، NF-κB، STAT و ...) و نیز مکانیسمهای اپی‌ژنتیکی مختلف، از جمله‌ی عوامل پیش‌برنده‌ی تومور مطرح شده‌اند (۳۲). TERT علاوه‌بر نقش اصلی در حفظ طول تلومرها، به‌طور فعال در تعداد زیادی از فرآیندهای سلولی مثل انتقال پیام، تکثیر سلولی، آپوپتوزیس و مهاجرت سلولی نیز نقش دارد. سلول‌های بنیادی بالغ طبیعی، طویل‌ترین تلومرها را در بافت‌ها دارند که از طریق بیان بالای TERT و فعالیت آنزیمی تلومراز حاصل می‌شود. در مقابل، سلول‌های بنیادی سرطانی با وجود بیان بالای TERT، دارای تلومرهای کوتاهی هستند که نشان می‌دهد سلول‌های بنیادی سرطانی از میزان بالای TERT تنها جهت حفظ یا طویل‌سازی تلومر استفاده نمی‌کنند. بررسی‌ها نشان دادند که بیان TERT در CSCs با فنوتیپ مزانشیمی مرتبط بوده و از دست دادن بیان TERT منجر به از دست دادن فنوتیپ مزانشیمی و کسب حالت اپی‌تلیالی خواهد شد. در واقع، این یافته‌ها بر نقش TERT در القای فرآیند EMT در CSCs دلالت دارد (۴۰). اگرچه تنظیم بیان TERT در طی فرآیند EMT هنوز به‌میزان زیادی ناشناخته است، اما، تعدادی از مطالعات به‌وجود ارتباطات بین تنظیم رونویسی TERT و فاکتورهای رونویسی درگیر در EMT اشاره می‌کنند (شکل۳).



شکل۳: تنظیم بیان *TERT* طی فرآیند EMT در ارتباط با فاکتورهای رونویسی درگیر در EMT. (۱) TERT با اتصال به β-Cat و میانکنش با کمپلکس مدل‌سازی مجدد SMARCA4 باعث بیان ژن‌های هدف مسیر پیام‌رسانی Wnt شامل *MMP-7*، *VEGF* و *c-Myc* می‌شود (۳۲و۳۴). (۲) c-Myc با اتصال به پروموتر ژن *TERT* باعث بیان آن می‌شود (۳۲و۳۴). (۳) TERT با اتصال به زیرواحد P65 از NF-κB مانع از راه‌یابی آن به درون هسته شده و بیان ژن‌های هدف آن شامل *ویمنتین*، *Snail1* و *HMGA2* را خاموش می‌کند. (۴) TERT در میانکنش با P65 درون هسته، بر روی پروموتر ژن‌های تسهیل‌کننده‌ی متاستاز شامل *MMPs* اثر فعال‌کنندگی دارد (۳۲).

تغییرات مولکولی و ساختاری کروماتین طی فرآیند EMT

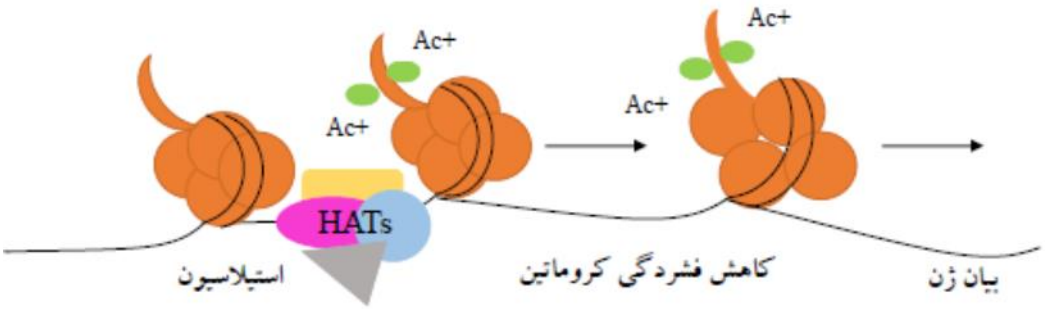
مطالعات پیشنهاد می‌کنند که ریزمحیط تومور (TME) از طریق فعال کردن فاکتورهای رونویسی مرتبط با EMT مثل Snail، Slug، ZEB1 و Twist باعث پیام‌رسانی القای فرآیند EMT می‌شود. از دست دادن اتصالات سلول_سلول از طریق

غیرفعال‌سازی E-کادهرین، به‌عنوان یک پروتئین نقطه‌ی اتصالات محکم، یکی از اصلی‌ترین مشخصه‌های فرآیند EMT بهحساب می‌آید. بعلاوه، فاکتورهای رونویسی مرتبط با EMT که توسط اختلالاتی در ریزمحیط تومور القا شده‌اند، جهت غیرفعال‌سازی E-کادهرین و دیگر فاکتورهای درگیر در فنوتیپ اپی‌تلیالی سلول‌ها از طریق خاموش‌سازی اپی‌ژنتیکی فعالیت می‌کنند. در حال حاضر، تغییرات اپی‌ژنتیکی که در تعیین سرنوشت سلولی اثر می‌گذارند، نظیر قابلیت قرار گرفتن تحت برنامههای EMT، به‌طور کامل درک نشده‌اند (۴۱). تغییرات اپی‌ژنتیکی شامل بازآرایی مجدد کروماتین، تغییرات N-ترمینال هیستونی و گوناگونی‌های هیستونی، رونویسی ژن‌ها را تحت تأثیر قرار داده و در تنظیم ساختار پویای کروماتین نقش دارند. در سلول‌های یوکاریوتی، پیچش مولکول DNA در اطراف اکتامرهای هیستونی نوکلئوزوم‌ها را ایجاد می‌کند. نوکلئوزوم‌ها بستهبندی شده و با تشکیل ساختارهای منظم‌تر دسترسی به DNA را کاهش داده و از رونویسی ممانعت می‌کنند (۴۲). همچنین بازآرایی کروماتین می‌تواند باعث تحریک CSCs به اجرای فرآیند EMT شود (۴۱). در مرکز نوکلئوزوم، دمین‌های کروی پروتئین‌های هیستونی در میانکنش با یک‌دیگر و فاصله‌ی خیلی نزدیک با مولکول DNA متصل می‌شوند، درحالی‌که دمین N-ترمینال آن‌ها می‌تواند تحت انواع مختلف تغییرات پس از ترجمه نظیر استیلاسیون، متیلاسیون، فسفریلاسیون، یوبی‌کوئیتیناسیون و... قرار گرفته که هر کدام از آن‌ها نتایج بیولوژیکی ویژه‌ای را در پی دارد. براساس انواع سلول‌های سرطانی، گوناگونی بازآرایی مجدد کروماتین، انواع فاکتورهای رونویسی فراخوانی کننده و انواع فاکتورهای میانکنش‌دهنده با مدل‌های کروماتینی بازآرایی‌یافته، تغییرات هیستونی به صورت‌های متفاوت در تنظیم پویایی کروماتین نقش ایفا می‌کنند. در برخی موارد، این تغییرات مستقیما در تنظیم کروماتین شرکت کرده و در بیشتر موارد، توسط پروتئین‌های دارای دمین‌های شناسایی کننده‌ی متمایز نظیر کرومودمین(CD)، MBT، تکرار WD40، انگشت PHD، PWWP، Tudor و تکرارهای انکرینی شناسایی می‌شوند (۴۲). در حال‌حاضر، چهار خانواده‌ی اصلی فاکتورهای بازآرایی مجدد کروماتین شامل SWI/SNF، ISWI، CHD و INO80 تعیین ویژگی شده‌اند که زیرواحد کاتالیتیکیATP آزی آن‌ها از طریق هیدرولیز ATP منجر به تغییر در اتصالات DNA-هیستون‌ها و از بین بردن ساختار نوکلئوزوم‌ها می‌شود. از طرفی، زیرواحد غیر کاتالیتیکی این کمپلکس‌ها در تنظیم متمایز فعالیت‌های مکان‌یابی نوکلئوزوم و برنامه‌های بیان ژنی و تعیین سرنوشت سلولی نقش ایفا می‌کنند. همچنین چندین پروتئین کمپلکس‌های بازآرایی مجدد کروماتین که در هماهنگی با هم در تنظیم فعالیت رونویسی طی فرآیند EMT عمل می‌کنند، شناسایی و اختلالات در این کمپلکس‌ها در پیشرفت بدخیمی‌ها به‌خوبی اثبات شده‌است (۴۳). تغییرات هیستونی به دو دسته‌ی مهارکننده‌های رونویسی و فعال‌کننده‌های رونویسی طبقه‌بندی می‌شوند (۴۲).

تغییرات هیستونی فعال‌کننده در EMT

استیلاسیون هیستونی:

در اثر تغییرات هیستونی فعال کننده، کروماتین به‌حالت یوکروماتین که در آن ژنوم به‌حالت بازتر و قابل دسترس‌تر برای ماشین‌های رونویسی است، قرار می‌گیرد. استیلاسیون هیستونی معمولا با اضافه شدن یک گروه استیل به باقی‌مانده‌های Lys در دم N-ترمینال هیستون‌ها اتفاق می‌افتد که با خنثی کردن بار مثبت هیستون‌ها باعث تضعیف میانکنش‌های DNA-هیستون و یا نوکلئوزوم-نوکلئوزوم و در نتیجه تقویت رونویسی می‌گردد (۴۲) (شکل۴).



شکل ۴: ستیلاسیون هسیتونی. استیله شدن اسیدآمینه‌های Lys بر روی هیستون‌ها باعث کاهش فشردگی کروماتین و دسترسی فاکتورهای رونویسی به پروموتور ژن‌های هدف و بیان آن‌ها می‌شود.

در سلول‌های یوکاریوتی فرآیند استیلاسیون توسط چندین خانواده‌ی هیستون استیل ترانسفراز (HATs) شامل PCAF، P300/CBP، TIP60 و hMOF کاتالیز می‌شود. هر یک از این استیل ترانسفرازها با کاتالیز کردن استیلاسیون‌های متفاوت بر روی پروموتر ژن‌های هدف و نیز خود فاکتورهای رونویسی درگیر در فرآیند EMT، نتایج بیولوژیکی مختلفی برجا می‌گذارند (۴۴و۴۵). در مسیر EMT وابسته به Wnt، β-Catenin جای‌گرفته در هسته با اتصال به فاکتور رونویسی TCF، P300/CBP را بر روی پروموترهای ژن‌های هدف مسیر Wnt به‌خدمت می‌گیرد و درنهایت تجمع یک کمپلکس فعال رونویسی باعث بیش‌تنظیمی بیان ژن‌های هدف پایین‌دست Wnt خواهد شد (۴۶). میانکنش P300 و PCAF با فاکتور رونویسی ZEB1 بر روی پروموتر miR200c/141، از طریق استیله کردن ZEB1 منجر به جدا شدن آن از پروموتر و القای بیان ژن کدکننده‌ی miRNA خواهد شد (۴۷). در چندین سلول سرطان پستان، پروتئین hMOF باعث استیلاسیون H4K16 در پروموتر چندین ژن سرکوبگر تومور مرتبط با فرآیند EMT شامل TWS1، E-کادهرین و ESR1 می‌شود که منجر به حفظ بیان ژن‌ها خواهد شد (۴۲).

متیلاسیون هیستونی:

متیلاسیون هیستونی بر روی زنجیره‌های جانبی باقی‌مانده‌های Lys و Arg اتفاق می‌افتد. براساس جایگاه‌های متیله‌شدن هیستون‌ها، وضعیت‌های متیلاسیونی متمایز و نیز انواع سرطان‌های مختلف، در طی مسیرهای پیام‌رسانی درگیر در EMT نقش و عملکردهای مختلفی برای متیلاسیون بروز پیدا می‌کند (۴۲). در مطالعه‌ای بر روی سرطان پستان، متیل ترانسفراز هیستونی DOT1L با کاتالیز تغییر هیستونی H3K79 بر روی پروموتر ژن‌های Snail1 و ZEB1/2 منجر به تشکیل یک کمپلکس بین این تغییر هیستونی و فاکتورهای رونویسی c-Myc و P300 شده و با همراهی مارکرهای اپی‌ژنتیکی دیگر، باعث فعال کردن بیان ژن‌های Snail1 و ZEB1/2 و پیش بردن فرآیند EMT و متاستاز می‌شود (۴۸). مطالعه‌ی دیگری نقش متیل ترانسفراز PRMT1 را در پیشبرد فرآیند EMT نشان می‌دهد. این آنزیم با کاتالیز متیلاسیون H3R3me2 بر روی پروموتر ZEB1 باعث بیان شدن آن و پیشبرد متاستاز خواهد شد (۴۹). همچنین در مطالعه‌ای بر روی مدل‌های EMT القا شده با فاکتور رشد TGF-β، افزایشی در میزان متیلاسیون‌های H3K4me3 و H3K36me3 شناسایی و نشان داد که این دو مارکر متیلاسیون فعال کننده نیز می‌توانند نقش خود را در پیشبرد EMT ایفا کنند (۴۵).

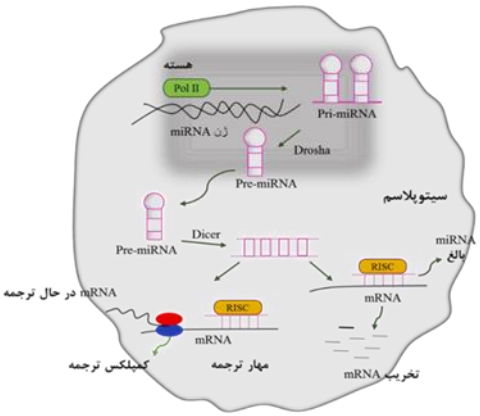
متیلاسیون هیستونی مهارکننده:

متیلاسیون روی هیستون‌های H3K9، H3K27، H4K20 و H4R3 اغلب با ژن‌های مهار شده از لحاظ رونویسی مرتبط بوده است. هر یک از این تغییرات هیستونی توسط متیل ترانسفرازهای مختلفی کاتالیز می‌شوند و این آنزیم‌ها می‌توانند از طریق فاکتورهای مختلف رونویسی درگیر در EMT به پروموتر ژن‌های هدف فراخوانی شوند. با این‌حال، مطالعاتی وجود دارند که نشان می‌دهند برخی متیلاسیون‌های هیستونی توسط آنزیم‌های یکسان انجام می‌گیرد (۴۲). کاتالیز متیلاسیون H3K9 عمدتا توسط آنزیم‌های G9a، GLP، SETDB1 و SUV39H1/2 انجام می‌شود. فعالیت G9a در برخی سرطان‌ها در متیلاسیون H3K9me2 به‌منظور مهار پروموتر ژن E-کادهرین مشاهده شده است. در این سرطان‌ها فراخوانی G9a به پروموتر ژن هدف توسط فاکتور رونویسی Snail1 انجام می‌گیرد (۵۰). در مطالعات دیگری، Snail1 با فراخوانی متیل ترانسفراز SUV39H1 به پروموتر ژن E-کادهرین باعث کاتالیز H3K9me3 شده است (۵۱). همچنین، همکاری متیل ترانسفراز SETDB1 با فاکتورهای درگیر در مسیرهای پیام‌رسانی مثل Smad2/3 به‌منظور مهار EMT در متاستاز سلول‌های سرطان ریه دیده شده است (۴۵). در سلول‌های سرطان پانکراس نیز متیل ترانسفراز PRC2 توسط Snail1 به پروموتر ژن E-کادهرین فراخوانی شده و تغییر H3K27me3 را کاتالیز می‌کند (۴۲).

۳) میکروRNAها (miRNAs):

miRNAها دسته‌ای از RNAهای غیر کد کننده‌ی کوچک (ncRNAs) هستند که در فرآیندهایی مثل تغییرات پس از رونویسی mRNAها نقش دارند. اهمیت چندین کلاس از ncRNAها در تنظیم رونویسی و پیشبرد EMT مطرح شده است که در این میان، miRNAها به‌طور بهتری در رابطه با شکل‌پذیری سلولی اپی‌تلیال-مزانشیمال مطالعه شده و جنبه‌های مختلف بیولوژی سرطان مثل شروع تومور و متاستاز را تنظیم می‌کنند. با این‌حال، جزئیات مولکولی مرتبط با آن‌ها در تنظیمات اپیژنتیکی مورد نیاز برای EMT هنوز به‌میزان زیادی ناشناخته است. miRNAها از طریق خردشدن پی‌درپی رونوشت‌های اولیه‌ی طویل با مشارکت فاکتورهایی مثل Drosha و Dicer ایجاد و به تغییرات پس از رونویسی mRNAها از طریق تخریب، مهار ترجمه و یا ترکیبی از هر دو منجر می‌شوند (۴۲و۵۲). بیشتر miRNAها از طریق تشکیل جفت باز بین توالی‌های ۲-۸ نوکلئوتیدی قرار گرفته در انتهای ′5 خود و ′3-UTR از mRNAهای هدف باعث تنظیم عملکرد آن‌ها در سلول‌ها می‌شوند (۵۳) (شکل۵).

ارتباطات پیچیده‌ی تنظیم‌شده‌ای بین miRNAها، فاکتورهای رونویسی درگیر در EMT، مسیرهای پیام‌رسانی مختلف و پروتئین‌های بازآرایی مجدد کروماتین در انواع مختلف سلول‌های سرطانی وجود دارد. بیشتر miRNAهای درگیر در تنظیم EMT باعث مهار این مسیر شده و به‌طور رایج در سلول‌های توموری کاهش بیان نشان می‌دهند. با این‌حال، برخی miRNAها از طریق افزایش سطح فاکتورهای رونویسی درگیر در EMT مثل Snail1، ZEB1/2، Slug و Twist به پیشبرد این فرآیند کمک می‌کنند.



شکل ۵: مکانیسم عملکرد miRNA. RNA پلی‌مرازII با رونویسی از ژن‌های *miRNA*، ساختارهای ثانویه‌ی پیوسته به‌هم تحت‌عنوان Pri-miRNA تولید می‌کند. اثر آنزیم Drosha بر این ساختارها منجر به تولید ساختارهای ثانویه‌ی جدا از هم تحت‌عنوان Pre-miRNA می‌گردد. با ورود این ساختارها به درون سیتوپلاسم، آنزیم دیگری بنام Dicer بر آن‌ها اثر کرده و باعث تولید miRNAهای دو رشته‌ای کوچک بالغ می‌شود. کمپلکس خاموشگر القا شده با RNA با اتصال به تک‌رشته‌ای از miRNA، میانکنش انتهای ′5 آن را با mRNA 3′-UTR ی هدف تسهیل می‌کند و به تنظیم پس از رونویسی آن منجر می‌شود.

تنظیم و پیشبرد EMT از طریق miRNAها

اثر مهارکنندگی miRNAها بر فرآیند EMT :

خانواده‌ی miR-200 به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های ضروری تمایز و ویژگی‌های اپی‌تلیالی در محدوده‌ی وسیعی از انواع سلول‌ها و بافت‌ها مطرح شده‌اند (۴۲). اعضای این خانواده‌ی RNAئی شامل miR-200a، miR-200b، miR-200c، miR-429 و miR-141 می‌باشد (۵۲و ۵۴). خانواده‌ی miR-200 از طریق هدف‌گیری مستقیم ناحیه‌ی 3′-UTR از mRNAهای ZEB1/2 باعث مهار فنوتیپ EMT می‌شوند (۵۴). وجود یک لوپ بازخورد منفی دوجانبه بین خانواده‌ی miR-200 و ZEB1/2 می‌تواند به‌عنوان فاکتور مسئول حفظ ویژگی‌های CSC در نظر گرفته شده و نشان‌دهنده‌ی نقش EMT در ایجاد و حفظ CSC باشد. در این لوپ بازخوردی، پروتئین‌های ZEB1/2 می‌توانند از طریق اتصال به پروموترهای اعضای خانواده‌ی miR-200 باعث مهار بیان آن‌ها شوند. این miRNAها نه‌تنها از طریق هدف‌گیری ZEB1/2 باعث حفظ فنوتیپ اپی‌تلیالی می‌شوند؛ بلکه قادرند از طریق مهار بیان فعال ژن‌های مختلف درگیر در حرکت و تهاجم سلولی نقش خود را ایفا کنند (۵۵-۵۷).miR-200b از این خانواده نقش خود را در مهار EMT از طریق هدف‌گیری ZEB2، به‌وسیله‌ی جای‌گیری E-کادهرین در غشای پلاسمایی سلول‌ها ایفا می‌کند. این miRNA همچنین از طریق مهار بیان Wnt1، β-Catenin و TCF-4 نقش خود را در مهار پیشبرد EMT بازی می‌نماید (۵۸). miR-200c علاوه‌بر نقش در مهار EMT از طریق هدف‌گیری ZEB1/2، از روش مهارکننده‌ی دیگری جهت ایفای نقش خود بهره می‌برد. این miRNA از طریق هدف‌گیری پروتئین‌های تنظیم‌کننده‌ی اکتین مثل FHOD1 و PPM1F منجر به از بین رفتن هماهنگی‌های بین ساختارهای اکتینی در سلول‌ها شده و نتیجه نهایی آن مهار حرکت و تهاجم سلول‌ها خواهد بود (۵۴). miR-205 نیز همانند خانواده‌ی miR-200 از طریق هدف‌گیری ناحیه‌ی 3′-UTR در mRNAهای ZEB1/2 در مهار فرآیند EMT نقش ایفا می‌کند. همچنین رونویسی این miRNA به‌واسطه‌ی لوپ بازخورد منفی با ZEB1/2 تحت

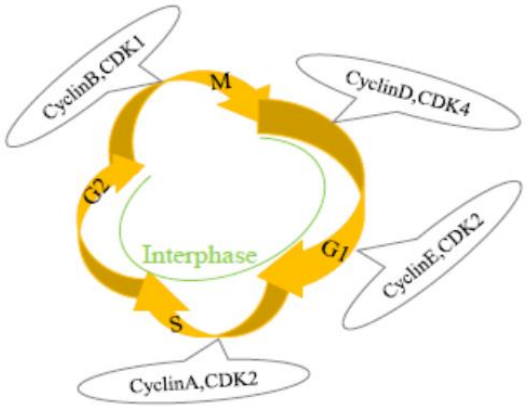
تنظیم و کنترل قرار می‌گیرد (۴۲و ۵۴). miRNA-666-5p و miR-183 نیز از جمله miRNAهایی هستند که از طریق ZEB2 باعث مهار EMT می‌شوند (۵۳). miR-200s با مهار بیان TGF-β2 و β-Catenin موجب تضعیف EMT شده و با هدف‌گیری mRNAهای مربوط به چندین آنزیم بازآرایی مجدد کروماتین شامل BMI1، SUZ12 و SIRT1 منجر به تنظیم منفی EMT و ایجاد ویژگی‌های شبه CSC می‌گردد (۴۲). miR-34a به‌عنوان یکی از مهارکننده‌های اصلی فرآیند EMT و نیز فاکتور سرکوبگر تومور مطرح شده است که توسط فاکتور P53 دچار تنظیم مثبت رونویسی شده و از طریق هدف‌گیری فاکتورهای رونویسی درگیر در EMT مثل ZEB1 و Snail1 نقش مهاری خود را ایفا می‌نماید. همانند خانواده‌ی miR-200، بینmiR-34a و دو فاکتور رونویسی مذکور نیز لوپ بازخوردی منفی وجود دارد (۴۲و۵۵). یک مطالعه بر روی سرطان کلورکتال نشان داد که فاکتور پروتئینی ZNF281 می‌تواند به‌عنوان تنظیم‌گر حدواسط بین miR-34a و Snail1 عمل نماید. علاوه‌بر Snail1، c-MET و β-Catenin نیز به‌عنوان هدف‌های دیگر miR-34a می‌باشند که در غیاب آن می‌توانند در پیشبرد EMT نقش ایفا کنند (۵۶).

اثر فعال کنندگی miRNAها بر فرآیند EMT :

مطالعات نشان می‌دهند که فعال شدن فرآیند EMT به‌واسطه‌ی miRNAها می‌تواند از طریق تنظیم منفی miRNAهای مهارکننده‌ی EMT توسط miRNAهای دیگر، فاکتورهای پیام‌رسانی درگیر در مسیرهای درون سلولی و یا عواملی مثل CD44 اتفاق بیفتد. همچنین هدف‌گیری مستقیم mRNAهای رمزگذار پروتئین‌های درگیر در فنوتیپ اپی‌تلیالی مثل E-کادهرین توسط miRNAهای فعال کننده‌ی EMT همچون miR-9 انجام می‌گیرد (۴۲و۵۹). خانواده‌ی miR-103/107 با هدف قرار دادن فاکتور پیش‌برنده‌ی بیوژنز miRNAها به‌نام Dicer باعث تضعیف بیوژنز خانواده‌ی miR-200 و القای فرآیند EMT در سلول‌های سرطان پستان می‌شود. مطالعات، بیش‌تنظیمی دو مورد رایج از miRNAهای القا کننده‌ی EMT به‌نام‌های miR-22 و miR-100 را به‌طور همزمان با بیان بسیار کاهش‌یافته‌ی اعضای خانواده‌ی miR-200 نشان داده‌اند. miR-22 با هدف‌گیری خانواده‌ی TET دی‌اکسیژناز متیل_سیتوزین منجر به افزایش متیلاسیون در ناحیه‌ی پروموتر ژن‌های miR-200 و بیان کاهش‌یافته‌ی آن‌ها می‌شود (۵۹). miRNAها همچنین می‌توانند از طریق مسیرهای پیام‌رسانی شبکه‌ی تنظیمی EMT را کنترل نمایند. یکی از این مسیرها می‌تواند مسیر Wnt باشد. بیش‌بیان miR-27 منجر به افزایش بیان فاکتورهای ویمنتین، Slug، ZEB1 و ZEB2 و بیان پایین E-کادهرین می‌شود. همچنین با اثر بر فاکتور APC، پیشرفت مسیر پیام‌رسانی Wnt و القای EMT را تسهیل می‌کند (۵۸). فاکتور TGF-β باعث تنظیم کاهشی اعضای خانواده‌ی miR-200 و تقویت سطوح mRNAی ZEB1 و ZEB2 می‌شود. TGF-β همچنین از طریق تنظیم بیان miRNAهای ویژه‌ای مثل miR-182 که در مهار مستقیم یک تنظیم‌گر منفی NF-κB به‌نام CYLD نقش دارد، منجر به فعال شدن مسیر NF-κB درون سلولی و القای EMT می‌گردد (۴۲). یک مطالعه بر روی سلول‌های سرطان پستان نشان داد که تعویض CD44 از فرم V به فرم S باعث کسب فنوتیپ EMT و پیشرفت سرطان می‌شود. CD44s بعد از القای EMT وساطت شده با فاکتورهای Twist و TGF-β باعث افزایش بقای سلول‌ها از طریق افزایش دادن فعالیت AKT می‌شود. همچنین CD44s از طریق آبشار CD44s-miR-200c-ZEB1 باعث مهار کردن miR-200c و القای EMT می‌شود (۵۳). باوجود مطالعات گسترده بر روی نقش و عملکرد miRNAها در پیشرفت فرآیند EMT و نیز کسب ویژگی‌های CSC در سرطان‌های مختلف، تحقیقات بیشتری نیاز است تا به‌وجود شبکه‌های تنظیمی پیچیده‌ی درگیر در فرآیند TME از طریق شناسایی فاکتورهای دیگر و عملکرد شناخته شده‌ی آن‌ها پی برد.

۴) تغییرات در چرخه‌ی سلولی طی فرآیند EMT :

چرخه‌ی سلولی مجموعه‌ای از وقایع می‌باشد که در آن‌ها ترکیبات سلولی، به‌طور دقیقی بین سلول‌های دختری تقسیم شده و می‌تواند توسط فعالیت‌های نوسان‌کننده‌ی کینازهای وابسته به سیکلین(CDKs) و کمک فعال‌کننده‌های آن‌ها کنترل شود (۶۰) (شکل۶).



شکل۶. چرخه‌ی سلولی. فازهای مختلف چرخه‌ی سلولی توسط کینازها و سیکلین‌های مختلف تنظیم می‌شود. فاکتورهای پیش‌برنده‌ی EMT می‌توانند با اثر بر عوامل تنظیم کننده‌ی چرخه‌ی سلولی باعث گسترش سرطان شوند.

تغییر در بیان و ناهنجاری‌های مولکولی پروتئین‌های تنظیم‌کننده‌ی چرخه‌ی سلولی مثل CDKs، سیکلین‌ها، مهارکننده‌های CDKs (CDKIs)، pRB، P53 و E2F در اثر عملکرد فاکتورهای اصلی درگیر در فرآیند EMT، فاکتورهای مولکولی مرتبط با نشانگرهای EMT و نیز مسیرهای مولکولی مختلف درون سلول، نقش اساسی در شروع و پیشرفت سرطان بازی می‌کند (۶۱).

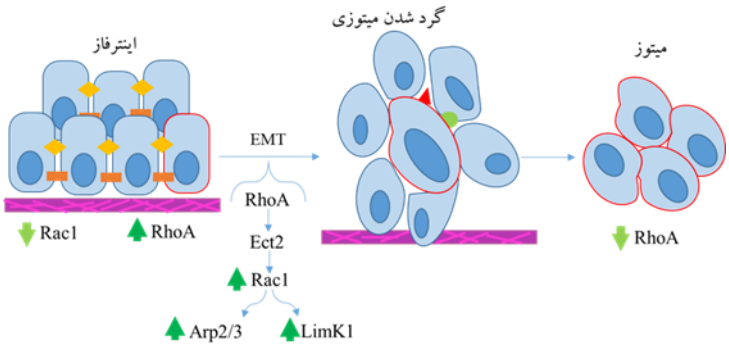
miRNAها توانایی مهار کردن مرگ سلولی و پیشبرد تکثیر سلول‌ها را به‌وسیله‌ی اثرات متقابل با ترکیبات چرخه‌ی سلولی دارا می‌باشند. خوشه‌ی miR-17-92 از طریق هدف‌گیری فاکتور E2F1 و Cyclin D1 بر چرخه‌ی سلولی اثر گذارده و در همکاری با انکوژن c-Myc از مرگ سلولی CSCها جلوگیری می‌کند (۶۲). این خوشه‌ی miRNA زمان‌بندی پیشرفت چرخه‌ی سلولی را از طریق تنظیم بیان فاکتورهای BMI1، PTEN، RBL2 و P21 تنظیم می‌نماید (۶۱). یک خانواده‌ی miRNA شامل miR-34a، miR-34b و miR-34c در رابطه با پیشرفت چرخه‌ی سلولی به‌خوبی مطالعه شده و تنظیم کاهشی آن‌ها در چندین نوع سلول سرطانی شامل آدنوکارسینومای ریه، سرطان کلون و کارسینومای هپاتوسلولار مشاهده شده است ۶۱و۶۳). miR-34a باعث القای توقف چرخه‌ی سلولی در محدوده‌ی G1/S و پیری سلول می‌گردد. این miRNA از طریق تنظیم نمودن CDK6، Cyclin D1 و E2F بر پیشرفت چرخه‌ی سلولی در سلول‌های سرطان کلون اثر منفی می‌گذارد. بیش‌بیانی خانواده‌ی miR-34a ممکن است باعث تجمع درصدی از سلول‌ها در محدوده‌ی G0/G1 و کاهش جمعیت سلول‌ها در فاز S شود (۶۱). از جمله‌ی دیگر فاکتورهای مولکولی درگیر در تنظیم چرخه‌ی سلولی در سرطان‌ها می‌توان به فاکتورهای اصلی پیش‌برنده‌ی فرآیند EMT شامل Snail1 و Snail2 اشاره کرد. نوسانات میزان بیان این فاکتورها و اثر تنظیمی آن‌ها بر چرخه‌ی سلولی به تاثیر متفاوت آن‌ها در فازهای مختلف چرخه‌ی سلولی بر اساس نوع سلول سرطانی منجر خواهد شد. در یک مطالعه، Mittal و همکاران نشان دادند که ارتباط مثبتی بین فاکتور Slug وCyclin D1 وجود داشته و تنظیم کاهشی آن باعث مهار بیان Cyclin D1 و

توقف چرخه‌ی سلولی در فاز G1 می‌شود. از سویی دیگر، در یک مطالعه توسط Liu و همکاران بر روی سرطان پروستات اثر منفی Slug بر روی بیان Cyclin D1 نشان داده شد. به‌طوری که بیان فاکتور Slug منجر به مهار بیان Cyclin D1 و توقف چرخه‌ی سلولی در محدوده‌ی G0/G1 گردید (۶۴). مطالعه بر روی سلول‌های کارسینومای نازوفارنکس(NPC) به‌وجود فاکتور تنظیم‌کننده‌ی دیگری در طی فرآیند EMT به‌نام FEZF1-AS1 اشاره کرد که به‌عنوان یک LncRNAی عامل انکوژن و تومورزایی در سرطان NPC مطرح شده است. فاکتور FEZF1-AS1 باعث فعال شدن مسیر پیام‌رسانی Wnt/β-Catenin شده و افزایش تجمع β-Catenin هسته‌ای در اثر بیش بیان این فاکتور منجر به تنظیم بیان نشانگرهای فرآیند EMT می‌شود. همچنین، کاهش بیان فاکتور E-کادهرین و افزایش بیان فاکتورهای N-کادهرین و ویمنتین در سلول‌های سرطانی در اثر عملکرد فاکتور مذکور دیده شده است. بیش بیان فاکتور FEZF1-AS1 قادر به پیشبرد تکثیر سلول‌های سرطانی از طریق کاهش بیان P21 و افزایش بیان Cyclin D1 بوده و در غیاب این فاکتور، اثر متضادی بر بیان فاکتورهای مذکور اعمال و منجر به توقف چرخه‌ی سلولی در محدوده‌ی G0/G1 می‌شود (۶۵). فاکتور دیگری تحت‌عنوان FLASH به‌عنوان تنظیم‌کننده‌ی EMT و چرخه‌ی سلولی در سرطان‌ها شناسایی شده که اثر خود را از طریق مهار بیان ژن E-کادهرین به‌واسطه‌ی کنترل پس از رونویسی ZEB1 اعمال می‌کند. در نبود FLASH، یوبی کوئیتیناسیون ZEB1 توسط فاکتورهای SIAH1 و FBXO45 باعث تخریب پروتئازومی آن و افزایش بیان E-کادهرین و بازگشت فرآیند EMT می‌شود. همچنین، نبود این فاکتور به توقف چرخه‌ی سلولی در فاز S و ممانعت از پیشرفت آن منجر می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که این توقف در چرخه‌ی سلولی نمی‌تواند تنظیم ZEB1 و E-کادهرین مرتبط با FLASH را میانجی‌گری نماید. در واقع تنظیم بیان ZEB1/ E-کادهرین به‌واسطه‌ی FLASH مستقل از عملکرد فاکتور FLASH در پیشرفت چرخه‌ی سلولی است. عملکرد این فاکتور در پیشرفت چرخه‌ی سلولی از طریق اثر مثبت بر بیان ژن‌های هیستونی می‌باشد (۶۶).

یوبی‌کوئیتیناسیون پروتئین‌ها به‌عنوان یک تغییر پس از ترجمه‌ای، و عامل اساسی در هومئوستازی سلولی نقش بازی می‌کند. در این فرآیند یوبی‌کوئیتین لیگازهای E3 درگیر هستند که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به خانواده‌ی پروتئین‌های TRIM اشاره کرد. بد تنظیمی این پروتئین‌ها باعث اختلال در فرآیندهای سلولی مختلف مثل چرخه‌ی سلولی و ایجاد سرطان‌ها می‌شود (۶۰). بیان و مکان‌یابی پروتئین‌های TRIM در طی چرخه‌ی سلولی به پیشرفت و تغییر فازهای مختلف آن بستگی دارد. این پروتئین‌ها می‌توانند به‌عنوان انکوژن‌ها یا ژن‌های سرکوبگر تومور باعث کنترل تکثیر سلولی و میتوز شوند. TRIM59 یکی از اعضای خانواده‌ی یوبی‌کوئیتین لیگاز E3، نقش خود را از طریق فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی ERK-MAPK بر روی القای فرآیند EMT در سلول‌های سرطانی ریه و نیز فاکتورهای تنظیمی چرخه‌ی سلولی مثل CDK6 اعمال می‌کند و به‌عنوان پیش‌برنده‌ی اصلی پیشرفت سرطان محسوب می‌شود (۶۷). بیش‌بیان TRIM44، کد کننده‌ی پروتئین دیگر مسیر یوبی‌کوئیتیناسیون، به‌عنوان فاکتور مهمی در فرآیند سرطان‌زایی و پیشرفت بدخیمی‌های انسانی مطرح شده است. این فاکتور پروتئینی از طریق تسهیل انتقال فاز G1/S و بیش‌تنظیمی سیکلین‌ها و CDKs باعث پیشبرد چرخه‌ی سلولی و تکثیر سلول‌های سرطانی ریه می‌شود (۶۸). از جمله‌ی فرآیندهای مولکولی درون سلول که در القای فرآیند EMT و پیشرفت چرخه‌ی سلولی دخیل است، فرآیند بیوژنز ریبوزوم می‌باشد. این فرآیند در یک روش وابسته به چرخه‌ی سلولی تنظیم شده است و به‌طور ویژه‌ای با رشد و تقسیم سلولی مرتبط است. بیش‌تنظیمی این فرآیند طی توقف G1/S اتفاق می‌افتد. القای رونویسی rDNA با انعطاف‌پذیری سلولی، از بین رفتن تمایز سلول‌ها و حالت بنیادی مرتبط می‌باشد. تقریبا نیمی از اپران‌های rDNA در سلول‌های تمایز یافته توسط کمپلکس بازآرایی مجدد کروماتین (N-COR) خاموش شده‌اند و مطالعات، تغییراتی در رونویسی rDNA را همراه با از بین رفتن تمایز یا EMT نشان می‌دهند. رونویسی rDNA، به‌عنوان مرحله‌ی شروع کننده در بیوژنز ریبوزوم‌ها با افزایش سنتز پروتئین‌های موافق با رشد و تقسیم سلولی مرتبط است. با شروع فعالیت رونویسی، جدا شدن

N-CoR از rDNA، فاکتورهایی مثل RNA پلی‌مرازI (POLI)، UBF، Snail1 و کمپلکس mTORC2 (عامل پیش برنده‌ی EMT) را به خدمت گرفته که درنهایت منجر به مهار بیان Cyclin D1 و نشانگرهای اپی‌تلیالی و نیز افزایش بیان فاکتورهای فنوتیپ مزانشیمی می‌گردد (۶۹). در سلول‌های یوکاریوتی طبیعی تنظیم منفی بیان فاکتور ZEB1 توسط کمپلکس مهار کننده‌ی Rb1/E2F1-HDAC1 از طریق اتصال مستقیم به پروموتر آن صورت می‌گیرد. بنابراین، سلول‌های سرطانی -/-Rb و -/-E2F1 طی فرآیند EMT سطح بالایی از ZEB1 را بیان می‌کنند. در سلول‌های دارای بیان بالای ZEB1، بیان افزایش یافته‌ی GADD456 مشاهده شده است که نقش ضروری در تنظیم چرخه‌ی سلولی، پیری سلول و آپوپتوزیس بازی می‌کند و به مهار فعالیت کینازی کمپلکس CDK1/Cyclin B1 (دخیل در پیشرفت چرخه‌ی سلولی از فاز G2 به M) منجر می‌شود (۷۰).

فرآیند EMT می‌تواند باعث القای تغییرات مکانیکی سلولی در قشر اکتینی سلول‌های سرطانی طی مرحله‌ی میتوز شود. سلول‌های جانوری برای میتوز موفق، نیاز به کسب حالت کروی برای فرآهم نمودن فضای لازم جهت تشکیل دوک میتوزی دارند که به‌واسطه‌ی از بین بردن شکل نرمال سلول‌های بافت اطراف از طریق انقباض اکتومیوزین غشایی خود و نیز سلول‌های مجاور حاصل می‌شود. در مقابل، سلول‌های سرطانی به‌دلیل محیط چالش بر انگیز خود که دارای جمعیت پر سلولی در حال افزایش می‌باشند، توانایی گرد شدن در مرحله‌ی میتوز را دارند. مطالعات نشان می‌دهند که رخداد EMT از طریق افزایش نیروهای لازم جهت گرد شدن میتوزی در کسب حالت کروی و بهبود توانایی سلول‌های سرطانی برای تقسیم سلولی در محیط محدود شده‌ی یک تومور کمک می‌کند. باوجود فشارهای مکانیکی خارجی در اطراف سلول در حال تقسیم در محیط تومور، قشر اکتینی سلول سرطانی برخی سازگاری‌های انکوژنی را جهت کسب حالت کروی و پیشرفت تومور از خود نشان می‌دهد. در سلول‌های سرطانی موجود در بستر اپی‌تلیالی افزایش فعالیت فاکتور RhoA و فعالیت پایین Rac1 اتفاق می‌افتد. طی EMT، تغییرات مکانیکی قشر سلولی رخ می‌دهند؛ به‌طوری‌که فاکتور انکوژنی Ect2 توسط فاکتور RhoA فعال شده و باعث افزایش در Rac1 طی اینترفاز می‌گردد. افزایش ترکیبی فاکتورهای LimK1 و Arp2/3 در پایین‌دست Rac1 باعث کاهش در سفت شدن و منقبض شدن قشر سلولی سلول در حال تقسیم و نیز سلول‌های مجاور خواهد شد که از طریق کاهش مقاومت مکانیکی سلول‌های اینترفازی مجاور شروع گرد شدن میتوزی را تسهیل می‌نماید. طی میتوز کاهش قابل توجه در بیان فاکتور RhoA باعث افزایش سفت شدن و منقبض شدن قشر سلولی و افزایش مقاومت آن در برابر فشارهای خارج سلولی خواهد شد (۷۱)(شکل۷). مطالعات بر روی سلول‌های اپی‌تلیالی دروزوفیلا پیشنهاد می‌کند که فرآیند مرگ سلولی یا آپوپتوزیس و جهت‌یابی دوک میتوزی می‌توانند به‌عنوان مکانیسم‌های مهارکننده‌ی تومور عمل نمایند. اما، این احتمال وجود دارد که جهت‌یابی نامناسب دوک میتوزی بتواند به‌عنوان عامل مسبب تومورزایی به‌حساب آید. مطالعه بر روی سلول‌های اپی‌کاردیوم موش حاکی از نقش فرآیند EMT در القای جابه‌جایی جهت‌یابی دوک میتوزی از حالت افقی به حالت عمودی می‌باشد. همچنین، مطالعه بر روی اپی‌تلیوم صفحه‌ی بال دروزوفیلا، جهت‌یابی نامناسب دوک میتوزی را در ایجاد سلول‌هایی با فنوتیپ مزانشیمی نشان داده که این سلول‌ها با تولید و ترشح سیتوکاین‌های میتوژنی باعث بیش‌تکثیری اپی‌تلیوم و ایجاد تومورهای بدخیم می‌شوند (۷۲).



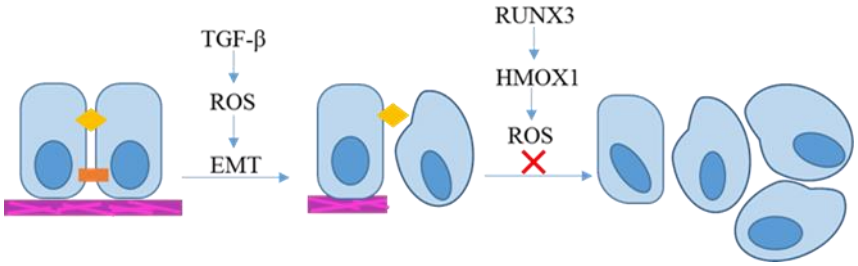
شکل۷. اثر EMT بر گرد شدن میتوزی. تغییرات مکانیکی قشر سلولی در بستر اپی‌تلیالی سلول‌های سرطانی طی EMT، باعث تغییر فعالیت فاکتورهای درون سلولی مختلف، ارتباطات بین‌سلولی مجاور و تسهیل تقسیم سلول‌های توموری و گسترش آن‌ها می‌شود.

۵) ناپایداری ژنومی طی فرآیند EMT :

ناپایداری ژنومی سلول‌ها به‌عنوان عامل پیش‌نیاز پیشرفت سرطان محسوب شده (۷۳و۷۴) و تغییر در تمامیت ژنوم از طریق تجمع جهش‌ها باعث کسب فنوتیپ سرطانی سلول‌ها می‌گردد (۷۵). در بیشتر سرطان‌های توارثی، ناپایداری ژنومی از طریق غیر فعال شدن ژن‌های ترمیم آسیب DNA مثل BRCA1، BRCA2، TP53 و ژن‌های شرکت‌کننده در ترمیم DNA مثل ATM و ATR حاصل می‌شود (۷۶). همچنین، مطالعات حاکی از رخداد ناپایداری ژنومی از طریق فاکتورهای درگیر در EMT هستند؛ وجود سیتوکاین‌هایی در ریزمحیط تومور مثل TGF-β که توسط سلول‌های توموری و سلول‌های استرومایی احاطه‌کننده‌ی آن‌ها ترشح می‌شود، قادر به تحریک ناپایداری ژنومی می‌باشند. فاکتور TGF-β اثرات متناقضی را از طریق فعال کردن پیام‌رسانی ضد تکثیری سلول‌ها و یا از طریق بهره‌مند کردن آن‌ها از ویژگی‌های پیش‌انکوژنی روی سرطان‌ها اعمال می‌کند (۷۷). TGF-β از طریق تولید آسیب DNA القا شده با فشار اکسیداتیو در سلول‌های جهش‌یافته در ژن RUNX3 توان ایجاد ناپایداری ژنومی را دارد. خانواده‌ی پروتئین‌های RUNX دارای سه فاکتور رونویسی هترودایمر RUNX1، RUNX2 و RUNX3 می‌باشدکه RUNX1 و RUNX3 در سلول‌های سرطانی به‌وسیله‌ی جهش و یا بد تنظیمی‌های اپی‌ژنتیکی غیرفعال شده‌اند و این یافته‌ها بر نقش آن‌ها به‌عنوان سرکوب‌کننده‌های ضروری تومور تأکید می‌کند. RUNX3 نقش اصلی خود را در پیشبرد سرطان در همکاری با فاکتور TGF-β ایفا می‌کند و فاکتور TGF-β در سلول‌های سالم از نظر ژن RUNX3 منجر به القای EMT از طریق تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) می‌شود. از سوی دیگر، RUNX3 با تنظیم افزایشی رونویسی HMOX1، تجمع زیاد ROS را کاهش می‌دهد. در چنین شرایطی سطوح پایین آسیب DNA و ناپایداری ژنومی دیده شده و پیشرفت تومور کاهش می‌یابد. اما، در سلول‌های دارای نقص در ژن RUNX3، تنظیم کاهشی رونویسی HMOX1 و افزایش تجمع ROS، درنهایت به افزایش آسیب DNA از طریق فشار اکسیداتیو و تحریک پیشرفت تومور منجر می‌گردد (۷۸) (شکل۸).

همچنین در مطالعه‌ای مشخص شد که فاکتور TGF-β می‌تواند از طریق القای ناهنجاری‌های میتوزی در سلول‌هایی که متحمل EMT شده بودند، به‌راه اندازی آنیوپلوئیدی‌ها و ناپایداری ژنومی را منجر شود (۷۹) و ظهور نقایص میتوزی و القای ناپایداری ژنومی نیازمند تکثیر مداوم سلول‌های متحمل EMT است. فاکتور TGF-β به‌عنوان یکی از پیشبرنده‌های فرآیند

EMT نقش خود را در القای ناپایداری ژنومی ایفا می‌کند. این فاکتور همراه با Snail1 باعث مهار پروتئین‌های پوشش هسته‌ای و کمپلکس منفذ هسته‌ای می‌شود؛ پروتئین‌هایی که در هماهنگ و موزون کردن پیشرفت میتوز، کنترل نقاط بررسی فعالیت دوک میتوزی، تجمع آن‌ها و حفظ عملکرد پوشش هسته‌ای نقش اساسی ایفا می‌کنند.



شکل۸: اثر RUNX3 بر پیشرفت EMT و سرطان. آسیب DNA در اثر فشار اکسیداتیو ایجاد شده با TGF-β باعث شروع فرآیندهای مولکولی پیش‌برنده‌ی EMT می‌شود. نبود فاکتور عملکردی RUNX3 منجر به افزایش آسیب DNA و گسترش سرطان می‌شود.

به‌طور ویژه، مهار شدن لامین β1 توسط فاکتورهای TGF-β و Snail1 باعث اختلال در فرآیند سیتوکینز، تجمع دوک میتوزی و فشردگی کروماتین می‌گردد. ناکارآمد بودن لامین β1 منجر به برآمدگی غشای هسته‌ای و شکست سیتوکینز و ایجاد سلول-های دو هسته‌ای می‌شود. مهار پروتئین‌های پوشش هسته‌ای باعث تضعیف آن و کاهش مقاومت آن در برابر فشار مکانیکی اعمال شده بر روی هسته طی فرآیند EMT خواهد شد که به‌هم ریختن شکل ساختار هسته‌ای باعث تراوش نوکلئوپلاسم به درون فضای سیتوپلاسمی طی اینترفاز می‌شود. از سویی، فرو ریختن پوشش هسته‌ای منجر به تنظیم نامناسب مکان‌یابی پروتئین‌های هسته‌ای و سیتوپلاسمی و به دام افتادن اندامک‌های سیتوپلاسمی در هسته می‌گردد. همچنین، DNA سلول در معرض اثرات آسیب‌رسان سیتوپلاسم قرار گرفته که منجر به آسیب سنگین به DNA و قطعه قطعه شدن آن خواهد شد. در واقع، تهاجم سلولی می‌تواند باعث از هم‌گسیختن پوشش هسته و از بین رفتن بخش‌بندی درون سلول گردد. همچنین، عواقب جبران‌ناپذیر آسیب‌های DNA و تحریک ناپایداری‌های القا شده با جهش‌ها به از بین رفتن یکپارچگی ژنوم منجر می‌شود (۸۰). علاوه‌بر فاکتورهای رونویسی دخیل در EMT، مکانیسم‌های ترمیم آسیب DNA نیز در ایجاد ناپایداری‌های ژنومی نقش دارند. فاکتوری تحت‌عنوان SIM2S از طریق فعالیت وابسته به ATM باعث بیش‌تنظیمی نوترکیبی هومولوگ (HR) و جلوگیری از فرآیند EMT می‌شود. طی آسیب DNA، باقی‌مانده‌ی آمینواسیدی S115 این فاکتور از طریق میانکنش با ATM فسفریله شده و در همکاری با BRCA1، RAD51 را به جایگاه آسیب فرا می‌خواند. جهش در جایگاه S115 از ژن SIM2S باعث کاهش عملکرد پروتئین حاصل از آن در نوترکیبی هومولوگ، از طریق شکست به خدمت‌گیری RAD51 خواهد شد. EMT القا شده با جهش S115 با کاهش در E-کادهرین مشخص شده و باعث تهاجم و متاستاز افزایش یافته می‌شود (۷۴). مطالعات نشان می-دهند که ناپایداری ژنومی همزمان با سایر نقص‌های ژنی مثل K-Ras به‌عنوان مرحله‌ی کلیدی در تومورزایی به‌حساب می‌آید. فاکتور K-Ras می‌تواند از طریق استفاده‌ی نامناسب و غیرمعمول از روش‌های ترمیم DNA شامل ترمیم اتصال بد (MMR)، HR و NHEJ باعث ایجاد ناپایداری ژنومی شود. فرآیند ترمیم MMR ناقص می‌تواند به‌عنوان عامل جهش‌های فعال‌کننده‌ی K-Ras نقش ایفا کند. EGFR از طریق فسفریله‌کردن PCNA و مهار کردن آن باعث مهار ترمیم MMR شده و درنهایت منجر به

افزایش جهش‌ها در ژن K-Ras خواهد شد. فاکتور K-Ras از طریق القا کردن ترکیبات درگیر در روش ترمیم NHEJ مثل DNA لیگاز 3α، پلی ADP-ریبوز پلی‌مراز۱ و XRCC4 باعث پیشبرد مسیر مستعد به خطای NHEJ و القای ناپایداری ژنومی طی میتوز خواهد شد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که سلول‌ها باوجود دارا بودن مکانیسم‌های ترمیم DNA، ممکن است از طریق نقایص در روش‌های ترمیم DNA دچار ناپایداری ژنومی شوند (۷۵). علاوه‌بر فاکتورهای رونویسی و عوامل درگیر در مکانیسم‌های ترمیم DNA، یکپارچگی ژنوم همچنین به اجرای مناسب چرخه‌ی سلولی وابسته است. این یکپارچگی می‌تواند از طریق مسیرهای انتقال دهنده‌ی پیام‌های مکانیکی اطراف تومور دچار تغییر شود. فاکتور TGF-β به‌عنوان یکی از مهم‌ترین سیتوکاین‌های ترشح شده از ریزمحیط تومور، از طریق بیان کردن پروتئین تشکیل دهنده‌ی فیلامنت یا Septin-6 به‌واسطه‌ی فاکتور رونویسی Snail1 باعث افزایش پایداری و ماندگاری جسم میانه در طی فرآیند میتوز و چند هسته‌ای شدن سلول‌ها می-شود. فیلامنت‌های Septin شامل Septin2، Septin6 و Septin7 به اتصال حلقه‌ی قابل انقباض اکتومیوزین به غشای پلاسمایی سلول کمک کرده و مانع از اشتباهات میتوزی، آنیوپلوئیدی و چند هسته‌ای شدن سلول‌ها می‌شوند. عملکرد این فاکتورها بسیار مرتبط با هم بوده و نقص در یکی از آن‌ها، می‌تواند منجر به از دست دادن عملکرد و کارآیی مناسب بقیه شود (۸۱).

۴- بحث

امروزه، دیدگاه‌های بسیاری در مورد ارتباطات بین EMT و CSCs گسترش یافته است. نقش فاکتورهای رونویسی مختلف در پیشبرد EMT و القای فنوتیپ CSC طی مطالعات زیادی مشخص شده است. این فاکتورها در فرآیندهای درون سلولی مختلفی شرکت کرده و منجر به القای EMT می‌شوند. همچنین، ارتباطات پیچیده‌ای بین فاکتورهای مختلف و عملکردهای ترکیبی آن‌ها دیده می‌شود. مطالعات روی فاکتورهای منحصر به فرد فرآیندهای سلولی و مولکولی ویژه‌ی EMT می‌تواند فهم دقیق مکانیسم‌های پیش‌برنده‌ی سرطان را آشکار کند. همچنین، درمان‌های هدف‌دهی کننده‌ی CSCs در خلال مکانیسم‌های ویژه‌ی اجرائی آن‌ها جهت متاستاز و پیشرفت سرطان نیازمند مطالعات گسترده بر روی بسیاری از عوامل پیش‌برنده‌ی مرتبط و ارتباطات مولکولی بین آن‌ها می‌باشد. اگرچه تعدادی از مطالعات روی گونه‌های جانوری برخی از تغییرات سلولی و مولکولی ویژه‌ای را طی EMT نشان داده است، با این‌حال، مطالعات روی رده‌ی سلول‌های انسانی جهت آشکار ساختن دقیق مکانیسم‌های اجرائی گسترش سرطان مورد نیاز است.

۵- نتیجه‌گیری

سرطان به‌عنوان یکی از بیماری‌های ژنتیکی رایج، نتیجه‌ی مکانیسم‌های پیش‌برنده‌ی پیچیده‌ای در درون سلول می‌باشد. باوجود مطالعات مختلف در زمینه‌ی تغییرات سلولی و مولکولی دخیل در مراحل مختلف پیشرفت بیماری، شکاف‌های علمی زیادی در فهم دقیق انواع مکانیسم‌های پیش‌برنده‌ی سرطان به‌چشم می‌خورد. تلاش در جهت رسیدن به مسیرهای انتقال پیام در سرطان و پی بردن به ارتباطات پیچیده‌ی سلولی و مولکولی می‌تواند امکان طبقه‌بندی تومورها را براساس معیارهای مختلف مثل مکانیسم‌های نوظهور درون‌سلولی سرطانی تسهیل کرده و درمان‌های مبتنی بر هدف‌گیری عوامل اصلی پیش‌برنده‌ی سرطان را تقویت نماید. بنابراین، درک بیشتر چنین مکانیسم‌هایی علاوه بر غنی‌سازی دانش ما از روند پیشرفت سرطان و روشن ساختن مبانی اصلی مرتبط با آن، از الزامات اصلی بهبود و توسعه‌ی روش‌های تشخیصی، پیش‌آگهی و درمانی جهت مدیریت سرطان به شمار می‌رود.

۶- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمامی پژوهشگران حیطه‌ی سرطان که راه را برای مدیریت و درمان این بیماری هموار می‌نمایند تشکر و قدردانی می‌کنند.

۷- منابع

1. Nagai H and Kim YH. Cancer prevention from the perspective of global cancer burden patterns. J Thorac Dis. 2017;9(3):448-51. Epub 2017/04/30.

2. Ayob AZ and Ramasamy TS. Cancer stem cells as key drivers of tumour progression. J Biomed Sci. 2018;25(1):20. Epub 2018/03/07.

3. Lee SY, Ju MK, Jeon HM, Lee YJ, et al. Oncogenic Metabolism Acts as a Prerequisite Step for Induction of Cancer Metastasis and Cancer Stem Cell Phenotype. Oxid Med Cell Longev. 2018;2018:1027453. Epub 2019/01/24.

4. Hoseinpoor feizi MA, Moniri javadhesari S, Montazeri V and Halimi M. Studying the expression of survivin & its splice variant; ΔEx3 as diagnostic molecular markers in breast cancer International Center for Science, High Technology and Environmental Sciences. 2008.

5. Hosseinpour Feizi MA, Moniri Javadhesari S, Babaei E, Montazeri V, et al. Study of the expression of Survivin & its splice variants; ΔEX3, 2B and 3B as diagnostic molecular markers in breast cancer. Journal of Shahid Sadoughi university of medical sciences and health services. 2009;17(2 (65)).

6. Moniri Javadhesari S, Gharechahi J, Hosseinpour Feizi MA, Montazeri V, et al. Transcriptional expression analysis of survivin splice variants reveals differential expression of survivin-3α in breast cancer. Genet Test Mol Biomarkers. 2013;17(4):314-20.

7. Zhou P, Li B, Liu F, Zhang M, et al. The epithelial to mesenchymal transition (EMT) and cancer stem cells: implication for treatment resistance in pancreatic cancer. Mol Cancer. 2017;16(1):52. Epub 2017/03/02.

8. Cai Z, Cao Y, Luo Y, Hu H, et al. Signalling mechanism(s) of epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells in tumour therapeutic resistance. Clin Chim Acta. 2018;483:156-63. Epub 2018/05/02.

9. Du B and Shim JS. Targeting Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) to Overcome Drug Resistance in Cancer. Molecules. 2016;21(7). Epub 2016/07/28.

10. Ponnusamy L, Mahalingaiah PKS, Chang Y-W and Singh KP. Role of cellular reprogramming and epigenetic dysregulation in acquired chemoresistance in breast cancer. Cancer Drug Resistance. 2019.

11. Zakaria N, Mohd Yusoff N, Zakaria Z, Widera D, et al. Inhibition of NF-kappaB Signaling Reduces the Stemness Characteristics of Lung Cancer Stem Cells. Front Oncol. 2018;8:166. Epub 2018/06/06.

12. Venkatesh V, Nataraj R, Thangaraj GS, Karthikeyan M, et al. Targeting Notch signalling pathway of cancer stem cells. Stem Cell Investig. 2018;5:5. Epub 2018/04/24.

13. San-Chi C, Tsai-Tsen L and Muh-Hwa Y. Emerging roles of epithelial-mesenchymal transition in hematological malignancies. Journal of Biomedical Science (2018) 25:37.

14. Li H, Zhang W, Yan M, Qiu J, et al. Nucleolar and spindle associated protein 1 promotes metastasis of cervical carcinoma cells by activating Wnt/beta-catenin signaling. J Exp Clin Cancer Res. 2019;38(1):33. Epub 2019/01/27.

15. Razali RA, Lokanathan Y, Yazid MD, Ansari AS, et al. Modulation of Epithelial to Mesenchymal Transition Signaling Pathways by Olea Europaea and Its Active Compounds. Int J Mol Sci. 2019;20(14). Epub 2019/07/19.

16. Nakano M, Ito M, Tanaka R, Ariyama H, et al. Epithelial-mesenchymal transition is activated in CD44-positive malignant ascites tumor cells of gastrointestinal cancer. Cancer Sci. 2018;109(11):3461-70. Epub 2018/08/25.

17. Li G, Su Q, Liu H, Wang D, et al. Frizzled7 Promotes Epithelial-to-mesenchymal Transition and Stemness Via Activating Canonical Wnt/beta-catenin Pathway in Gastric Cancer. Int J Biol Sci. 2018;14(3):280-93. Epub 2018/03/22.

18. Asad M, Wong MK, Tan TZ, Choolani M, et al. FZD7 drives in vitro aggressiveness in Stem-A subtype of ovarian cancer via regulation of non-canonical Wnt/PCP pathway. Cell Death Dis. 2014;5:e1346. Epub 2014/07/18.

19. Zhang Q, Liu S, Parajuli KR, Zhang W,, et al. Interleukin-17 promotes prostate cancer via MMP7-induced epithelial-to-mesenchymal transition. Oncogene. 2017;36(5):687-99. Epub 2016/07/05.

20. Peixin Dong KI, Ying Xiong, Hidemichi Watari, Sharon J.B. Hanley, et al. Reactivation of epigenetically silenced miR-124 reverses the epithelial-to-mesenchymal transition and inhibits invasion in endometrial cancer cells via the direct repression of IQGAP1 expression. Oncotarget. 2016.

21. Li CH, Sun XJ, Niu SS, Yang CY, et al. Overexpression of IQGAP1 promotes the angiogenesis of esophageal squamous cell carcinoma through the AKT and ERKmediated VEGFVEGFR2 signaling pathway. Oncol Rep. 2018;40(3):1795-802. Epub 2018/07/18.

22. Hu W, Wang Z, Zhang S, Lu X, et al. IQGAP1 promotes pancreatic cancer progression and epithelial-mesenchymal transition (EMT) through Wnt/beta-catenin signaling. Sci Rep. 2019;9(1):7539. Epub 2019/05/19.

23. Zhou HJ XZ, Wang Z and Zhang H. SUMOylation of VEGFR2 regulates its intracellular trafficking and pathological angiogenesis. Nat Commun. 2018;9(1):p. 3303

24. Basu S, Cheriyamundath S and Ben-Ze'ev A. Cell-cell adhesion: linking Wnt/beta-catenin signaling with partial EMT and stemness traits in tumorigenesis. F1000Res. 2018;7. Epub 2018/10/03.

25. Wang MH, Sun R, Zhou XM, Zhang MY, et al. Epithelial cell adhesion molecule overexpression regulates epithelial-mesenchymal transition, stemness and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cells via the PTEN/AKT/mTOR pathway. Cell Death Dis. 2018;9(1):2. Epub 2018/01/07.

26. Chen C, Zhao S, Karnad A and Freeman JW. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. J Hematol Oncol. 2018;11(1):64. Epub 2018/05/12.

27. Buhrmann C, Yazdi M, Popper B, Kunnumakkara AB, et al. Induction of the Epithelial-to-Mesenchymal Transition of Human Colorectal Cancer by Human TNF-beta (Lymphotoxin) and its Reversal by Resveratrol. Nutrients. 2019;11(3). Epub 2019/03/29.

28. Kong L, Guo S, Liu C, Zhao Y, et al. Overexpression of SDF-1 activates the NF-kappaB pathway to induce epithelial to mesenchymal transition and cancer stem cell-like phenotypes of breast cancer cells. Int J Oncol. 2016;48(3):1085-94. Epub 2016/01/20.

29. Wang F, Ma L, Zhang Z, Liu X, et al. Hedgehog Signaling Regulates Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Cancer Stem-Like Cells. J Cancer. 2016;7(4):408-17. Epub 2016/02/27.

30. Riobo-Del Galdo NA, Lara Montero A and Wertheimer EV. Role of Hedgehog Signaling in Breast Cancer: Pathogenesis and Therapeutics. Cells. 2019;8(4). Epub 2019/04/28.

31. Zhang J, Tian XJ and Xing J. Signal Transduction Pathways of EMT Induced by TGF-beta, SHH, and WNT and Their Crosstalks. J Clin Med. 2016;5(4). Epub 2016/04/05.

32. Bartsch RHaJoW. Essential roles of telomerase reverse transcriptase Htert in cancer stemness and metastasis. FEBS Letters. 2018.

33. Déjardin MTJ. Telomere chromatin establishment and its maintenance during mammalian development. Chromosoma. 2018;127::3-18.

34. Schiemann NJRaWP. Means to the ends: The role of telomeres and telomere processing machinery in metastasis Biochim Biophys Acta 2016;1866(2): :320-9.

35. Marco De Vitis FBaAS. Telomere Length Maintenance in Cancer: At the Crossroad between Telomerase and Alternative Lengthening of Telomeres (ALT). Int J Mol Sci. 2018;19::606.

36. Luca Pompili CL, Annamaria Biroccio and Erica Salvati. Diagnosis and treatment of ALT tumors: is Trabectedin a new therapeutic option? Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2017;36::189.

37. Hu YS G, Zhang L, Li F, Jiang Y, et al. Switch telomerase to ALT mechanism by inducing telomeric DNA damages and dysfunction of ATRX and DAXX. Sci Rep. 2016;6:32280.

38. Angelica M. Lagunas1 JWaDLC. Telomere DNA damage signaling regulates cancer stem cell evolution, epithelial mesenchymal transition, and metastasis Oncotarget,. 2017;8:pp: 80139-55.

39. Rocco Mazzolini NuGa, Andrea Garcia-Garijo, Alba Millanes-Romero, Sandra Peir ´o SS, et al. Snail1 transcription factor controls telomere transcription and integrity. Nucleic Acids Reacher. 2018;46.

40. Ahmed El-Badawy NIG, Mohamed A. Nasr, Hoda Elkhenany, Toka A. Ahmed, et al. Telomerase reverse transcriptase coordinates with the epithelial-to-mesenchymal transition through a feedback loop to define properties of breast cancer stem cells. The Company of Biologists. 2018;7.

41. Alyssa A. La Belle WPS. The propensity for epithelial-mesenchymal transitions is dictated by chromatin states in the cancer cell of origin. Stem Cell Investigation. 2017.

42. Fang LSaJ. Epigenetic Regulation of Epithelia-Mesenchymal Transition. Cell Mol Life Sci. 2016.

43. Cells D-DRoNRAwSSdE-MTiOC. DOC1-Dependent Recruitment of NURD Reveals Antagonism with SWI/SNF during Epithelial-Mesenchymal Transition in Oral Cancer Cells. Cell Reports. 2017.

44. Bidet NKaY. New Insights into the Implication of Epigenetic Alterations in the EMT of Triple Negative Breast Cancer. Cancers. 2019.

45. Sudha Suriyamurthy DB, Peter ten Dijke and Prasanna Vasudevan Iyengar. Epigenetic Reprogramming of TGF- Signaling in Breast Cancer. Cancers. 2019.

46. T Zhan NRaMB. Wnt signaling in cancer. Oncogene. 2016.

47. Yanping Gao BF, Siqi Han, Kai Zhang, Jing Chen, et al. The Roles of MicroRNA-141 in Human Cancers: From Diagnosis to Treatment. Cellular Physiology and Biochemistry. 2016.

48. Gregoire J-MF L, Salazar-Cardozo C, Alby F, Masson V, et al. Identification of epigenetic factors regulating the mesenchyme to epithelium transition by RNA interference screening in breast cancer cells. BMC Cancer. 2016.

49. Gao Y ZY, Zhang J, Lu Y, Liu X, et al. The dual function of PRMT1 in modulating epithelial-mesenchymal transition and cellular senescence in breast cancer cells through regulation of ZEB1. Scientific reports. 2016.

50. Yue Hu YZ, Mingrui Dai, Jiaxin Wu, Bin Yu, et al. Snail2 induced E-cadherin suppression and metastasis in lung carcinoma facilitated by G9a and HDACs. CELL ADHESION & MIGRATION. 2019;13.

51. Silvia Juliana Serrano-Gomez MMaSKA. Regulation of epithelial-mesenchymal transition through epigenetic and posttranslational modifications. Molecular Cancer 2016.

52. Hiroaki Miyazaki R-uT, Marta Prieto-Vila, Yumi Kawamura, Seiji Kondo, et al. CD44 exerts a functional role during EMT induction in cisplatinresistant head and neck cancer cells. Oncotarget. 2018;9.

53. Shu-Jin He C-QX, Yu Zhang, Xiang-Tong Lu, Hou-Wen Chen, et al. Recent progress on the effects of microRNAs and natural products on tumor epithelial–mesenchymal transition. OncoTargets and Therapy. 2017.

54. Dominika Piasecka MB, Radzislaw Kordek, Rafal Sadej and Hanna Romanska. MicroRNAs in regulation of triple-negative breast cancer progression. Journal of cancer research and clinical oncology. 2018.

55. Eva Slabáková ZC, Ján Remšík and Karel Souček. Alternative mechanisms of miR-34a regulation in cancer. Cell Death and Disease. 2017.

56. Yang Hao DBaPtD. TGF--Mediated Epithelial-Mesenchymal Transition and Cancer Metastasis. Int J Mol Sci. 2019.

57. Michitaka Nakano MI, Risa Tanaka, Hiroshi Ariyama, Kenji Mitsugi AM, et al. Epithelial- mesenchymal transition is activated in CD44- positive malignant ascites tumor cells of gastrointestinal cancer. Cancer science. 2018.

58. Cunen WU YZ, Shan Jiang, Shenlin Liu, Jinyong Zhou, et al. Interaction between Wnt/β-catenin pathway and microRNAs regulates epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. International journal of oncology. 2016.

59. Jongchan Kim FY, Zhenna Xiao, Yutong Sun and Li Ma. MicroRNAs and metastasis: small RNAs play big roles. Cancer Metastasis Rev. 2018.

60. Santina Venuto aGM. E3 Ubiquitin Ligase TRIM Proteins, Cell Cycle and Mitosis. Cells. 2019.

61. Michelle M. J. Mens MG. Cell Cycle Regulation of Stem Cells by MicroRNAs. Stem cell Review and Reports. 2018.

62. Ye Y, Zhuang J, Wang G, He S, et al. microRNA-605 promotes cell proliferation, migration and invasion in non-small cell lung cancer by directly targeting LATS2. Experimental and Therapeutic Medicine. 2017.

63. Engkvist ME, Stratford EW, Lorenz S, Meza-Zepeda LA, et al. Analysis of the miR-34 family functions in breast cancer reveals annotation error of miR-34b. Science Reporter,. 2017.

64. Zhou GaaY. Effect of modulation of epithelial‑mesenchymal transition regulators Snail1 and Snail2 on cancer cell radiosensitivity by targeting of the cell cycle, cell apoptosis and cell migration/invasion (Review). Oncology letters. 2019.

65. Cheng Y. FEZF1-AS1 is a key regulator of cell cycle, epithelial–mesenchymal transition and Wnt/β-catenin signaling in nasopharyngeal carcinoma cells Bioscience Reports. 2018.

66. Abshire CF, Carroll JL and Dragoi AM. FLASH protects ZEB1 from degradation and supports cancer cells' epithelial-to-mesenchymal transition. Oncogenesis. 2016.

67. Biao Geng ML, Lilong qin, Wenying Zhao, Hanli wang, et al. An TRIM59- CDK6 axis regulates growth and metastasis of lung cancer. J Cell Mol Med. 2018.

68. Ying Xing QM, Xuesong Chen, Yanbin Zhao, Wei Liu, et al. TRIM44 promotes proliferation and metastasis in non‑small cell lung cancer via mTOR signaling pathway. Oncotarget. 2016;7.

69. Varsha Prakash BBC, Jennifer M. Feenstra, Randall A. Dass, Petra Sekyrova, et al. Ribosome biogenesis during cell cycle arrest fuels EMT in development and disease. Nature communications. 2019.

70. Zheng H-C. The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers Oncotarget. 2017;8.

71. Kamran Hosseini AT, Carsten Werner and Elisabeth Fischer-Friedrich. EMT-induced cell mechanical changes enhance mitotic rounding strength. bioRxiv. 2019.

72. Nakajima Y-i. Mitotic spindle orientation in epithelial homeostasis and plasticity. J Biochem. 2018.

73. Kuan-Li Wu Y-MT, Chi-Tun Lien , Po-Lin Kuo and Jen-Yu Hung. The Roles of MicroRNA in Lung Cancer Int J Mol Sci. 2019.

74. Scott J. Pearson TRS, Cole M. McQueen, Jessica Elswood, Emily E. Schmitt,et al. ATM-dependent activation of SIM2s regulates homologous recombination and epithelial-mesenchymal transition. Oncogene. 2019.

75. GG Jinesh VS, S Vijayaraghavan, K Balaji and S Mukherjee. Molecular genetics and cellular events of K-Ras-driven tumorigenesis. Oncogene. 2018.

76. TubbsA N. EndogenousDNAdamage as a source of genomic instability in cancer. . Cell 2017.

77. David CJ HY, Chen M, Su J, Zou Y, et al. TGF-beta tumor suppression through a lethal EMT. Cell. 2016.

78. Vaidehi Krishnan YLC, Tuan Zea Tan, Madhura Kulkarni,, Muhammad Bakhait Bin Rahmat LST et al. TGFb Promotes Genomic Instability after Loss of RUNX3 Molecular Cell Biology. 2017.

79. Comaills V KL, Morris R, Buisson R, Yu M, et al. Genomic instability is induced by persistent proliferation of cells undergoing epithelial-to-mesenchymal transition. Cell Rep. 2016.

80. Valentine Comaills LK, Robert Morris, Lee Zou and Daniel AandHaber SM. Genomic Instability Is Induced by Persistent Proliferation of Cells Undergoing Epithelial-to-Mesenchymal Transition. Cell Reports. 2016.

81. Allison K. Simi AyAA, Melody Stallings-Mann, Sherry Zhang, Tiffaney Hsia MC, et al. A Soft Microenvironment Protects from Failure of Midbody Abscission and Multinucleation Downstream of the EMT-Promoting Transcription Factor Snail Molecular Cell Biology. 2018.