

piRNA 的功能研究进展*

崔东亚^{1,2} 王佳佳¹ 何顺民^{1,△}

(¹ 中国科学院动物研究所 系统与进化重点实验室 北京 100101; ² 运城学院 生命科学系 运城 044000)

摘要 piRNA 是一类种类繁多的小 RNA, 通常在生殖类细胞中表达, 其功能是抑制转座子的转座, 维持基因组结构的稳定性。对线虫 piRNA 研究发现, piRNA 还具有记忆基因表达的功能。体细胞和癌细胞中 piRNA 的发现, 更凸显了 piRNA 功能的重要性和多样性。本文梳理了近几年来 piRNA 功能研究的最新成果, 包括 piRNA 在调控转座子、mRNA、lncRNA、DNA 甲基化修饰、染色体表观修饰等方面的功能, 同时也探讨了 piRNA 和癌症的关系。

关键词 piRNA; 转座子; 基因表达; 癌症

中图分类号 Q3; Q74

The Research Advance of the piRNA Function CUI Dong-Ya^{1,2}, WANG Jia-Jia¹, HE Shun-Min^{1,△}
(¹Key Laboratory of Zoological Systematics and Evolution, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; ²College of Life Science, Yuncheng University, Yuncheng 044000, China)

Abstract Piwi-interacting RNA (piRNA) is the largest class of small non-coding RNA, which usually expressed in germline cells. piRNA has a role in transposon silencing, and contributes to maintain genome integrity. The *C. elegans* piRNA has a special role in a memory of previous gene expression. The discovery of piRNA in somatic cells and cancers showed the functional diversity of piRNA. In this article, we reviewed the piRNA's role in transposon, mRNA, lncRNA, DNA methylation and epigenetic regulation, and discussed the function of piRNA in cancers.

Key words piRNA; transposon; gene expression; cancer

PIWI 蛋白是生殖干细胞更新所必需的一类重要蛋白^[1], 同时, PIWI 蛋白还与转座元件的转座控制有关^[2,3], 比如果蝇的 AUB 蛋白(果蝇中的一种 PIWI 蛋白)参与了对反转座子的抑制调控^[4]。与 PIWI 蛋白结合的小 RNA (PIWI interacting small RNA, piRNA) 最早是在果蝇小 RNA 表达谱中被发现的^[5,6], 序列分析发现这些小 RNA 与基因间的重复序列存在关联, 当时被命名为 rasiRNA (重复序列相关的小 RNA, repeat-associated small interfering RNA)^[6]。由于基因间的重复序列中含有反转座子序列, 因此当时推测 rasiRNA 可能与转座子沉默有关^[5]。因为 piRNA 与 PIWI 蛋白在功能上存在相似性, Nagin 等人很快证实 piRNA 与 PIWI 蛋白相结合, 并共同参与了对转座子的调控^[7,8], piRNA 产生和调控的乒乓模型机制随后被提出^[9]。于是将与 PIWI 蛋白结合的这类小 RNA 命名为 piRNA。

基于大量高通量测序数据的分析发现, piRNA 主要来源于基因组上的 3 个区域, 一是基因间区, 通常成簇分布, 称之为 piRNA 簇(piRNA cluster), 基因间区也通常是转座子碎片序列的富集区^[10], 二是

mRNA 的 3'-UTR 区域, 三是来自长非编码基因区域^[11]。piRNA 来源的不同也意味着 piRNA 功能的多样化。

一、piRNA 的特征

通过对 piRNA 相关的数据分析发现, piRNA 主要在生殖细胞中表达, 其长度一般在 25 ~ 31nt 左右, 5' 端首位通常为单磷酸的尿嘧啶核糖核酸, 3' 末端也进行了甲基化的修饰(图 1), 与 PIWI 蛋白结合形成复合体。线虫中 piRNA 的长度较短只有 21nt, 因此也被称为 21U-RNA^[12], 但在结构上与其它物种的 piRNA 没有区别。

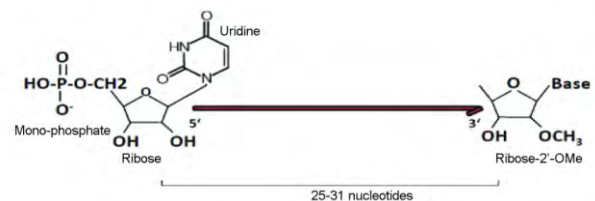


图 1 piRNA 的一般结构^[13]

* 科技部 863 项目资助课题

△ 通讯作者

研究认为 piRNA 在生殖细胞的发生与维持生殖细胞基因组结构的稳定性有关,推测 piRNA 具有抵御异源序列插入的功能,其中包括反转座子^[14]。在线虫的 piRNA 研究中还发现 piRNA 对其它基因表达有记忆功能,一旦出现新表达的 RNA 触发 piRNA 的记忆功能,则对新表达的 RNA 进行沉默^[15,16]。进一步分析,piRNA 一旦形成新的记忆特征,该记忆特征就可以维持很多代^[17,18]。

二、piRNA 与转座子

早在 20 世纪 40 年代,McClintock 就在玉米中发现了转座子的存在。转座子包含 2 个大的类型,一是反转座子,二是 DNA 转座子。DNA 转座子是直接从原来的位置剪切下来,转移并插入到基因组的其它位置上;反转座子则类似于反转录病毒,首先通过 DNA 转录出 RNA,再逆转录成 cDNA 并插入到新的位点。反转座的结果会造成序列的重复,如 Alu 转座子^[19];一些转座子的插入会导致外显子序列变长,从而转录出有害的 mRNA 序列^[20]。因此有效的抑制转座子的转座,有利于保持基因组结构的稳定性。通过对果蝇 piRNA 研究发现,一类 5' 端为尿嘧啶核苷酸的 piRNA,是由其前体加工而来;另外一类第 10 位为腺嘌呤核苷酸的 piRNA,是由转座子 RNA 剪切而来。这两类 piRNA 之间存在 10 个碱基的互补,由此提出生成 piRNA 的乒乓机制^[14]。通过序列分析发现,符合乒乓模型的 piRNA 是重复序列相关的 piRNA,从基因间的序列中被转录出来,基因间序列富集着大量的转座子序列碎片^[10]。

从 piRNA 对转座子存在抑制的角度来看,piRNA 具有维持基因组稳定性的功能。该功能主要体现在 piRNA 对反转座子 RNA 进行识别,识别后利用具核酸内切酶活性的蛋白对转座子 RNA 进行切割,造成反转座子 RNA 功能的丧失,达到抑制反转座子转座的目的。

三、piRNA 与转录本

(一) 调控转录本积累 piRNA 的种类繁多,在同一个体的不同发育时期或细胞的不同发育阶段,piRNA 表达的种类和数量都存在很大的差异。piRNA 转录位点通常成簇出现在染色体的特定位置,如线虫 piRNA(也称为 21U-RNA)主要来自四号染色体的 2 个 piRNA 簇内^[21],而 piRNA 簇内通常含有转座子插入序列^[11],piRNA 可以通过碱基互补配对的方式识别转座子序列,因此 piRNA 参与转座子的抑制很容易被理解。在鼠的精子发育过程中,研究发现在粗线期表达的一类 piRNA,与 MIWI 结合

形成复合物,当 Miwi 突变后,会导致精子发育停滞^[22,23]。该发现说明 piRNA 与 PIWI 蛋白复合物除了具有抑制转座子转座的功能,可能还有其它的功能。

Faukner 等人发现在哺乳动物的转录组中,很多 mRNA 的 3'-UTR 中含有转座子插入序列。如鼠的转录组中 27.7% 的 mRNA 中含有转座子序列,人的转录组中 28.5% 的 mRNA 中含有转座子序列^[24]。同时基于 mRNA 转录组分析也发现,piRNA 在抑制转座子转座的同时,一些含有转座子序列的 mRNA,同样也会受到 piRNA 的调控。如在鼠的卵母细胞中,将反转座子序列引入到报告基因的 3'-UTR 区,发现报告基因表达的 mRNA 序列不稳定^[25]。Lim 等人同样也在鼠的卵母细胞中发现,一些 mRNA 的 5'-UTR 中也存在转座子序列^[26]。

目前研究发现,piRNA 调控 mRNA 的机制主要有两种:降解机制和剪切机制。众所周知,CAF1 在 miRNA 调控 mRNA 降解中有很重要的作用,Gou 等^[27]在小鼠中的研究表明 CAF1 可以与 piRNA/MIWI 复合物相结合,该复合体可以导致 piRNA 识别的靶 mRNA 进行脱腺苷化,最终使得 mRNA 降解。而 Zhang^[28]等报道了 piRNA/MIWI 介导的对 mRNA 的剪切机制。Zhang^[28]等通过对小鼠球形精子期的相关数据研究发现,piRNA/MIWI 可以通过碱基互补配对的方式识别靶 mRNA,且在 piRNA 的 10nt 有 mRNA 剪切片段的富集;而在 MIWI 催化区域丧失的情况下,piRNA 的 10nt 位点 mRNA 剪切片段的富集程度显著下降。这表明 piRNA/MIWI 复合体是通过 piRNA 识别 MIWI 剪切的方式来调控靶 mRNA。piRNA 种类繁多,其对 mRNA 的调控机制也是多种多样的。

卵细胞中积累着大量母本遗留下来的 mRNA,帮助卵细胞在受精后能够迅速合成胚胎发育早期所需的蛋白。卵细胞受精后,进行卵裂和早期的胚胎发育,在这个发育过程中,遗留下来的 mRNA 会逐渐减少和消亡。Rouget 等发现 piRNA 参与了果蝇中这些 mRNA 的降解过程,研究发现卵细胞中的 nanos mRNA 的降解与 Aubergine 蛋白有关,该蛋白突变后 nanos mRNA 降解受阻。序列分析发现 nanos mRNA 中同样也存在转座子序列,功能分析发现该转座子序列也是 nanos mRNA 降解所必需,因此认为应该存在一类 piRNA 与 Aubergine 蛋白形成复合体,参与到 nanos mRNA 的降解中^[29]。

piRNA 不仅可以从转座子相关的序列中转录出

来,还可以从一些假基因中转录出来,假基因来源的 piRNA 可以调控其同一基因家族中的其它基因。例如在果蝇中,与 X 染色体连锁的 *Stellate* 基因表达积累会造成雄性个体不育,而与 Y 染色体连锁的假基因 *Su(Ste)* 恰恰是抑制 *Stellate* 基因表达的关键基因。研究发现该假基因的反义链通过转录和加工产生成熟 piRNA,该 piRNA 通过碱基互补配对的方式来识别 *Stellate* mRNA,以达到调控 *Stellate* 基因表达的目的^[30]。鉴于 piRNA 与 *Stellate* 基因间的调控关系,推测一些编码基因的反义链同样转录并加工形成具有调控作用的 RNA(如 piRNA),这些具有调控作用的 RNA 通过碱基互补的方式识别其相应的编码基因,从而调控编码基因转录后的加工或翻译。这种关系在植物拟南芥中被发现,Wang 等发现近 70% 的 mRNA 与反义链的转录本有关联^[31]。总之,调控转录本的积累可能是 piRNA 一项重要功能,最终通过控制编码基因的转录本的数量来达到调控编码基因表达。

(二) 调控染色体修饰 对于基因的表达进行转录后调控只能是暂时的,最直接有效的调控办法是打开或关闭编码基因的转录。piRNA 通常在生殖相关的细胞或组织中表达,为了保证基因组的稳定性,可能与染色体表观修饰的重建有关。因为在配子发生过程中,鼠的 *Piwi* 蛋白和 piRNA 通常会在 2 个阶段集中表达,即卵母细胞阶段和精母细胞阶段。恰在这两个阶段,染色体中的抑制表观修饰处在低水平状态,如 DNA 甲基化修饰、组蛋白 H3K9 甲基化修饰等^[32-33],甚至核小体上的标准组蛋白也被其它组蛋白类型替换掉^[34]。那么 piRNA 与染色体的表观修饰是否存在关联呢? 染色体的修饰改变必然引发基因表达的变化,长非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) 就是其中一类 RNA,lncRNA 从基因间转录。研究发现约有 66% 的 lncRNA 都含有反转座子序列,因此推测 lncRNA 很有可能受到 piRNA 的调控^[35]。针对鼠 *Rasgrfl* 序列研究发现,*Rasgrfl* 序列的甲基化过程需要 piRNA 的参与。lncRNA 中,那些来自 *Rasgrfl* 的转座子序列被 piRNA 识别,从而实现了对 lncRNA 的调控^[36]。

PIWI-piRNA 复合物参与转座子的转座抑制已被广泛承认,然而对染色体的修饰的作用机制还不是很清楚。Yu 等发现果蝇 *Piwi* 复合物中存在一种蛋白“Panoramix”,该蛋白可以与转录的初始 RNA 结合,不仅可以抑制靶序列的表达,同时对靶序列转录位点附近序列的表达也同样有抑制作用,对转录

位点的染色体分析发现共沉默的序列上产生了抑制转录的表观修饰。由此推测“Panoramix”蛋白是 piRNA 沉默机制中的受体蛋白,piRNA 沉默机制通过与受体蛋白结合,准确无误的对靶序列的转录位点进行表观修饰,从而达到永久关闭靶基因表达的目的^[37]。

在诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC) 中同样发现了 piRNA 的存在。诱导多能干细胞具有分化成各类细胞的潜力,其中表观修饰决定着细胞分化的命运,分析认为 piRNA 不仅与转座子沉默、mRNA 转录或转录后的调控有关,同样也与染色体和 DNA 的表观修饰有关。通过参与对染色体结构的构建,使得细胞向特定方向进行分化^[38]。

总之 piRNA 对基因表达的调控主要体现在两个层面上,转录调控和转录后调控。转录调控主要通过表观修饰来调控基因表达,通过对染色体和 DNA 的修饰,关闭或打开基因的表达;转录后调控则是通过 piRNA 与转录本互补识别,并介导对 mRNA 的降解或切割,减少转录本 RNA 的数量,实现对其表达的调控。

四、piRNA 与癌症

研究人员发现环境因素在引发癌症发生的同时,也相应的提高了转座子转座的发生率^[39]。Chen 等证实乳腺癌的癌细胞中转座子的转录本和转座子相关的酶明显高于正常细胞中的含量^[40]。随着测序技术的发展,在一些癌细胞中也相继发现了 piRNA 的存在,这表明 piRNA 很有可能与癌症的发生、发展相关。Cheng 等发现 piR-651 在胃癌、结肠癌、肺癌和乳腺癌中表达升高,进一步分析发现 piR-651 具有抑制胃癌细胞分裂的作用,使得癌细胞的分裂停留在 G2/M 期^[41]。同样在胃癌患者中,研究者发现其外周血中的 piR-651 和 piR-823 比健康人的表达水平要低^[42]。Cheng 等进一步研究发现在胃癌组织中 piR-823 的表达水平虽然低于非癌组织,但在提高胃癌细胞组织中 piRNA-823 的表达水平后,癌细胞的生长受到了抑制^[43]。虽然 piRNA 在癌细胞中具体作用机制还不是很清楚,但是研究表明 piRNA 通路的紊乱会导致癌症发生^[43]。

piRNA 与 PIWI 蛋白形成复合物,参与靶序列的调控。癌细胞中同样也检测到 *Piwi* 蛋白的存在。人体内存在 4 种 PIWI 蛋白,分别是 PIWIL1/HIWI、PIWIL2/HILI、PIWIL3、PIWIL4/HIWI2,不同的癌症中有其特定类型的 PIWI 蛋白^[44]。Xie 等在肝癌组

织中检测到 PIWIL1/ HIWI 蛋白,认为该蛋白具有致癌作用,因为在该蛋白表达下降时,肝癌细胞增殖和迁移能力均降低^[45]。同样在胃癌病变前期到胃癌发生的过程中,PIWI 蛋白表达水平也在增高,将 PIWI 表达沉默后,胃癌细胞的增殖受到影响。因此细胞中 PIWI 蛋白的出现可以看作是癌症发生的征兆^[46]。Fu 等在乳腺癌中研究发现 piR-021285 可以作用于 ARHGAP11A 基因的 5'-UTR 区进行甲基化修饰,从而增强了该基因的表达,致使癌细胞更具侵袭力^[47]。

PIWI 蛋白在癌细胞中的作用主要有 4 个,分别为促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、增强细胞的迁移能力和维持基因组的稳定性^[48]。癌细胞本身具有不受限制的增殖和迁移能力,同时癌细胞还具有逃避凋亡程序、不断分裂的能力,而为了维持这种能力,必须保证其基因组结构的相对稳定。因为转座子的转座是基因组结构稳定的潜在威胁,piRNA 本身具有调控转座子转座的能力,这也许是很多癌细胞中 piRNA 存在的原因。但现在的问题是在很多癌细胞中虽然发现了 PIWI 蛋白,但还没有发现与之结合的 piRNA,说明在 PIWI 与 piRNA 复合物上还有很多未知的功能没有被发现^[49]。

癌症本身的发生机制还有很多未解之谜,癌细胞本身具有一定的干细胞特征,如细胞持续分裂、细胞分化程度低、染色体修饰程度低等,因此在癌细胞中发现 piRNA 应该是顺理成章的事情。

五、展望

piRNA 是一类非常有意思的小 RNA,其种类繁多、表达情况随着发育而变化,且 piRNA 的表达量之间也存在很大差异,通过加大测序深度仍能发现更多的 piRNA。piRNA 的这些特征足以吸引更多的科研人员参与其中,piRNA 的表达特征说明 piRNA 的表达模式有很多种类型,因此能阐明一种 piRNA 的功能都是非常有意义的工作。piRNA 的种类繁多、数量庞大使其可能共同参与所有基因的表达,因为 piRNA 本身就具有记忆基因表达的功能,也就是说 piRNA 本身可能是基因表达缓冲物质,共同参与所有基因的表达调控,使基因在一定范围内表达,尤其在干细胞中,谨慎的调控着基因的表达,使得细胞朝着既定方向分化。而已分化的成体细胞其染色体已经完成了相关的表观修饰,基因表达模式也趋于稳定,piRNA 已完成了相应的调控使命,这也许是成体细胞中 piRNA 表达较少的原因。然而癌细胞染色体的表观修饰发生了改变,细胞形态则处于去分

化状态,转座子重新被激活,但是转座子的转座可能会引发癌细胞凋亡,为了维持癌细胞的生长,piRNA 被重新转录出来,与 PIWI 蛋白共同抑制转座子的转座。总之 piRNA 是一项重要发现,但其功能依然保持着神秘。

参 考 文 献

- 1 Cox DN, Chao A, Baker J, et al. A novel class of evolutionarily conserved genes defined by piwi are essential for stem cell self-renewal. *Gene Dev*, 1998, 12 : 3715 ~ 3727.
- 2 Kalmykova AI, Klenov MS, Gvozdev VA. Argonaute protein PIWI controls mobilization of retrotransposons in the *Drosophila* male germline. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33 : 2052 ~ 2059.
- 3 Sarot E, Payen-Groschene G, Bucheton A, et al. Evidence for a piwi-dependent RNA silencing of the gypsy endogenous retrovirus by the *Drosophila melanogaster* flamenco gene. *Genetics*, 2004, 166 : 1313 ~ 1321.
- 4 Vagin VV, Klenov MS, Kalmykova AI, et al. The RNA interference proteins and vasa locus are involved in the silencing of retrotransposons in the female germline of *Drosophila melanogaster*. *Rna Biol*, 2004, 1 : 54 ~ 58.
- 5 Aravin AA, Naumova NM, Tulin AV, et al. Double-stranded RNA-mediated silencing of genomic tandem repeats and transposable elements in the *D-melanogaster* germline. *Curr Biol*, 2001, 11 : 1017 ~ 1027.
- 6 Aravin AA, Lagos-Quintana M, Yalcin A, et al. The small RNA profile during *Drosophila melanogaster* development. *Dev Cell*, 2003, 5 : 337 ~ 350.
- 7 Vagin VV, Sigova A, Li CJ, et al. A distinct small RNA pathway silences selfish genetic elements in the germline. *Science*, 2006, 313 : 320 ~ 324.
- 8 Saito K, Nishida KM, Mori T, et al. Specific association of Piwi with rasiRNAs derived from retrotransposon and heterochromatic regions in the *Drosophila* genome. *Genes Dev*, 2006, 20 : 2214 ~ 2222.
- 9 Gunawardane LS, Saito K, Nishida KM, et al. A slicer-mediated mechanism for repeat-associated siRNA 5' end formation in *Drosophila*. *Science*, 2007, 315 : 1587 ~ 1590.
- 10 Moyano M, Stefani G. piRNA involvement in genome stability and human cancer. *J Hematol Oncol*, 2015, 8 : 38.
- 11 Han BW, Zamore PD. piRNAs. *Curr Biol*, 2014, 24 : R730 ~ R733.
- 12 Klattenhoff C, Theurkauf W. Biogenesis and germline functions of piRNAs. *Development*, 2008, 135 : 3 ~ 9.
- 13 Bamezai S, Rawat VP, Buske C. The piwi-piRNA axis: pivotal beyond transposon silencing. *Stem Cells*, 2012, 30 : 2603 ~ 2611.
- 14 Brennecke J, Aravin AA, Stark A, et al. Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in *Drosophila*. *Cell*, 2007, 128 : 1089 ~ 1103.
- 15 Ashe A, Sapetschnig A, Weick EM, et al. piRNAs can trigger a multigenerational epigenetic memory in the germline of *C. elegans*. *Cell*, 2012, 150 : 88 ~ 99.
- 16 Shirayama M, Seth M, Lee HC, et al. piRNAs initiate an epigenetic memory of nonself RNA in the *C. elegans* germline. *Cell*, 2012, 150 : 65 ~ 77.

- 17 Lee HC , Gu W , Shirayama M , et al. C. elegans piRNAs mediate the genome-wide surveillance of germline transcripts. *Cell* ,2012 ,150 : 78 ~ 87.
- 18 Baumann K. SMALL RNAs Transmitting silence through generations. *Nat Rev Mol Cell Bio* ,2012 ,13 : 477 ~ 477.
- 19 Sen SK , Han K , Wang J , et al. Human genomic deletions mediated by recombination between Alu elements. *Am J Hum Genet* ,2006 ,79 : 41 ~ 53.
- 20 Ponican SL , Kugel JF , Goodrich JA. Genomic gems: SINE RNAs regulate mRNA production. *Curr Opin Genet Dev* ,2010 ,20 : 149 ~ 155.
- 21 Ruby JG , Jan C , Player C , et al. Large-scale sequencing reveals 21U-RNAs and additional microRNAs and endogenous siRNAs in C-elegans. *Cell* ,2006 ,127 : 1193 ~ 1207.
- 22 Deng W , Lin H F. miwi , a murine homolog of piwi , encodes a cytoplasmic protein essential for spermatogenesis. *Dev Cell* ,2002 ,2 : 819 ~ 830.
- 23 Beyret E , Lin H. Pinpointing the expression of piRNAs and function of the PIWI protein subfamily during spermatogenesis in the mouse. *Dev Biol* ,2011 ,355 : 215 ~ 226.
- 24 Faulkner GJ , Kimura Y , Daub CO , et al. The regulated retrotransposon transcriptome of mammalian cells. *Nat Genet* ,2009 ,41 : 563 ~ 571.
- 25 Watanabe T , Takeda A , Tsukiyama T , et al. Identification and characterization of two novel classes of small RNAs in the mouse germline: retrotransposon-derived siRNAs in oocytes and germline small RNAs in testes. *Genes Dev* ,2006 ,20 : 1732 ~ 1743.
- 26 Lim AK , Lorthongpanich C , Chew TG , et al. The nuage mediates retrotransposon silencing in mouse primordial ovarian follicles. *Development* ,2013 ,140 : 3819 ~ 3825.
- 27 Gou LT , Dai P , Yang JH , et al. Pachytene piRNAs instruct massive mRNA elimination during late spermiogenesis. *Cell Res* ,2014 ,24 : 680 ~ 700.
- 28 Zhang P , Kang JY , Gou LT , et al. MIWI and piRNA-mediated cleavage of messenger RNAs in mouse testes. *Cell Res* ,2015 ,25 : 193 ~ 207.
- 29 Rouget C , Papin C , Boureux A , et al. Maternal mRNA deadenylation and decay by the piRNA pathway in the early Drosophila embryo. *Nature* ,2010 ,467 : 1128 ~ 1132.
- 30 Kotelnikov RN , Klenov MS , Rozovsky YM , et al. Peculiarities of piRNA-mediated post-transcriptional silencing of Stellate repeats in testes of Drosophila melanogaster. *Nucleic Acids Res* ,2009 ,37 : 3254 ~ 3263.
- 31 Wang H , Chung PJ , Liu J , et al. Genome-wide identification of long noncoding natural antisense transcripts and their responses to light in Arabidopsis. *Genome Res* ,2014 ,24 : 444 ~ 453.
- 32 Sasaki H , Matsui Y. Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. *Nat Rev Genet* ,2008 ,9 : 129 ~ 140.
- 33 Liu Z , Zhou S , Liao L , et al. Jmjd1a demethylase-regulated histone modification is essential for cAMP-response element modulator-regulated gene expression and spermatogenesis. *J Biol Chem* ,2010 ,285 : 2758 ~ 2770.
- 34 Kimmins S , Sassone-Corsi P. Chromatin remodelling and epigenetic features of germ cells. *Nature* ,2005 ,434 : 583 ~ 589.
- 35 Kelley D , Rinn J. Transposable elements reveal a stem cell-specific class of long noncoding RNAs. *Genome Biol* ,2012 ,13 : R107.
- 36 Watanabe T , Tomizawa S , Mitsuya K , et al. Role for piRNAs and noncoding RNA in de novo DNA methylation of the imprinted mouse Rasgr1 locus. *Science* ,2011 ,332 : 848 ~ 852.
- 37 Yu Y , Gu J , Jin Y , et al. Panoramix enforces piRNA-dependent cotranscriptional silencing. *Science* ,2015 ,350 : 339 ~ 342.
- 38 Wang Y , Sun T , Wang K , et al. PiRNAs link epigenetic modifications to reprogramming. *Histol Histopathol* ,2014 ,29 : 1489 ~ 1497.
- 39 Giorgi G , Marcantonio P , Del Re B. LINE-1 retrotransposition in human neuroblastoma cells is affected by oxidative stress. *Cell Tissue Res* ,2011 ,346 : 383 ~ 391.
- 40 Chen L , Dahlstrom JE , Chandra A , et al. Prognostic value of LINE-1 retrotransposon expression and its subcellular localization in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* ,2012 ,136 : 129 ~ 142.
- 41 Cheng J , Guo JM , Xiao BX , et al. piRNA , the new non-coding RNA , is aberrantly expressed in human cancer cells. *Clin Chim Acta* ,2011 ,412 : 1621 ~ 1625.
- 42 Cui L , Lou Y , Zhang X , et al. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using piRNAs as markers. *Clin Biochem* ,2011 ,44 : 1050 ~ 1057.
- 43 Cheng J , Deng H , Xiao B , et al. piR-823 , a novel non-coding small RNA , demonstrates in vitro and in vivo tumor suppressive activity in human gastric cancer cells. *Cancer Lett* ,2012 ,315 : 12 ~ 17.
- 44 Wang Y , Liu Y , Shen X , et al. The PIWI protein acts as a predictive marker for human gastric cancer. *Int J Clin Expl Pathol* ,2012 ,5 : 315 ~ 325.
- 45 Xie Y , Yang Y , Ji D , et al. Hiwi downregulation , mediated by shRNA , reduces the proliferation and migration of human hepatocellular carcinoma cells. *Mol Med Rep* ,2015 ,11 : 1455 ~ 1461.
- 46 Liu X , Sun Y , Guo J , et al. Expression of hiwi gene in human gastric cancer was associated with proliferation of cancer cells. *Int J Cancer* ,2006 ,118 : 1922 ~ 1929.
- 47 Fu A , Jacobs DI , Hoffman AE , et al. PIWI-interacting RNA 021285 is involved in breast tumorigenesis possibly by remodeling the cancer epigenome. *Carcinogenesis* ,2015 ,36 : 1094 ~ 1102.
- 48 Tan Y , Liu L , Liao M , et al. Emerging roles for PIWI proteins in cancer. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* ,2015 ,47 : 315 ~ 324.
- 49 Assumpcao CB , Calcagno DQ , Araujo TM , et al. The role of piRNA and its potential clinical implications in cancer. *Epigenomics* ,2015 ,7 : 975 ~ 984.