

上皮间质转化介导肿瘤转移的分子机制

张青云¹, 傅俊江², 陈汉春^{1*}

(1. 中南大学 生命科学学院 生物化学与分子生物学系, 中国湖南 长沙 410013; 2. 西南医科大学 表观遗传与肿瘤重点实验室 医学基础研究中心, 中国四川 泸州 646000)

摘 要: 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞上皮样特征减少并获得间充质细胞特性的生理过程。EMT 是肿瘤细胞侵袭转移所必需的初始步骤, EMT 过程中上皮细胞失去细胞极性和细胞黏附能力, 并获得迁移和侵袭性。在 EMT 过程中, 肿瘤细胞频繁出现 E-钙黏蛋白(E-cadherin)功能的丧失, N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(vimentin)及基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)表达水平的上调, β -连环蛋白(β -catenin)从细胞膜到细胞核的重新定位。EMT 相关转录因子 Twist、Snail 及 Zeb 家族的异常高表达均经促进 EMT 而介导肿瘤细胞的侵袭转移。

关键词: 上皮间质转化(EMT); 肿瘤; 侵袭; 转移

中图分类号: Q291, R73-37

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2018)06-0503-08

The Molecular Mechanism of Epithelial-mesenchymal Transition Mediating Tumor Metastasis

ZHANG Qing-yun¹, FU Jun-jiang², CHEN Han-chun^{1*}

(1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Life Sciences, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China; 2. Key Laboratory of Epigenetics and Oncology, the Research Center for Preclinical Medicine, Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China)

Abstract: Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a process whereby epithelial cells lose many of their epithelial traits and acquire various features of mesenchymal cells. EMT is considered as an initial and necessary step by which epithelial cells lose their cell polarity and cell-cell adhesion, and gain migratory and invasive properties. Functional loss of E-cadherin, up-regulated expression of N-cadherin, vimentin and matrix metalloproteinases (MMPs) and reorientation of β -catenin from the cell membrane to the nucleus are frequently observed in the tumor cells undergoing EMT. All of the EMT-related transcription factor members in Twist, Snail and Zeb families mediate the invasion and metastasis of tumor cells by promoting EMT.

Key words: epithelial-mesenchymal transition (EMT); tumor; invasion; metastasis

(Life Science Research, 2018, 22(6): 503-510)

肿瘤转移是癌症致死的重要原因之一^[1]。肿瘤细胞的转移历经上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、定向侵袭、侵入血液循环或淋巴循环、渗出脉管并形成微转移灶和定植^[2]。EMT 是上皮细胞上皮样特征减少并获得间

充质细胞特性的生理过程^[3], 也是正常器官发生和应对细胞应激、炎症和缺氧反应所需的重要环节^[4]。EMT 受众多参与维持上皮特性的钙依赖性细胞黏附分子的调节。例如: 钙黏蛋白切换, 即 E-钙黏蛋白(E-cadherin)到 N-钙黏蛋白(N-cadherin)的

收稿日期: 2018-04-16; 修回日期: 2018-05-14

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划, 2011CB910700)

作者简介: 张青云(1992-), 女, 山东潍坊人, 硕士研究生; * 通讯作者: 陈汉春(1957-), 男, 湖南桃江人, 博士, 中南大学教授, 博士生导师, 主要从事疾病发生与治疗机制研究, Tel: 0731-82650230, E-mail: chenhanhanchun@csu.edu.cn。

转换,其重要分子特征是 E-cadherin 功能丧失以及 N-cadherin 和波形蛋白(vimentin)等功能增强。EMT 是肿瘤细胞侵袭转移的初始步骤,呈现上皮细胞失去细胞极性和细胞黏附能力而获得迁移和侵袭性,在启动和促进肿瘤细胞侵袭和转移中发挥重要作用^[5]。EMT 过程中,一些细胞可以获得有助于肿瘤细胞转移的肿瘤干细胞样特性和耐药性^[6]。该过程也与抑制细胞衰老相关^[7]。根据其发生的生物学背景,EMT 被分为 3 种亚型。I 型 EMT 对胚胎发生和器官发育至关重要;II 型 EMT 受炎症反应激活,与伤口愈合、组织再生和器官纤维化相关;III 型 EMT 主要参与肿瘤的发展和转移^[8]。肿瘤发展过程中的 EMT 可通过间质上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET)而恢复上皮样特性,多发生在肿瘤细胞最终的转移部位以形成新的肿瘤^[7]。较多研究发现,多种类型的肿瘤组织中异常高表达 Twist、Snail 和 Zeb 等转录因子家族成员,这些转录因子通过负调节 E-cadherin 转录而促进 EMT 的发生发展^[1,9]。本文主要介绍几种 EMT 标志性蛋白质和典型的转录因子在肿瘤侵袭转移中的作用及其机制,为肿瘤的生物治疗机制研究提供新思路。文中所涉及的分子之间的相互作用总结于图 1。

1 EMT 标志性蛋白质影响肿瘤转移

应力纤维重排、 β -连环蛋白(β -catenin)从膜到核的重新定位、E-cadherin 表达被抑制、肌动蛋白发生重组及 vimentin 和 N-cadherin 表达上调是肿瘤转移过程中 EMT 发生的关键事件。上皮细胞特征的维持在于稳定的细胞-细胞接触及黏附点的形成, E-cadherin 通过 α -或 β -catenin 连接到肌动蛋白丝形成稳定的细胞接触。肿瘤细胞在 EMT 过程中频繁出现 E-cadherin 表达下调和功能丧失, β -catenin 从膜到核的重新定位,间充质细胞标志性蛋白质 N-cadherin 和 vimentin 高表达均促进肿瘤细胞转移^[9,10]。

1.1 E-cadherin 抑制肿瘤转移

E-cadherin 是由钙黏蛋白 1 基因(*cadherin-1*, *CDH1*)表达的跨膜糖蛋白^[11]。它是钙黏蛋白超家族中的一员,作为一种 Ca^{2+} 依赖性黏附分子,能够调节细胞间相互作用^[12]。E-cadherin 是促进上皮细胞黏附的钙依赖性细胞表面蛋白质,具有长肽段的胞质和胞外结构域,胞外结构域在相邻细胞之间产生亲和作用以促进细胞黏附。E-cad-

herin 是 EMT 典型的上皮细胞标志物。抑制 E-cadherin 的表达或阻断其功能可致细胞间质形态改变,有利于细胞迁移、侵袭和转移^[13]。研究发现,体细胞突变、染色体缺失、蛋白水解酶切割均可以使 *CDH1* 沉默或表达水平降低,此外表观遗传学修饰引起的 *CDH1* 启动子沉默,同样可以降低 E-cadherin 的表达,从而促使上皮细胞获得成纤维细胞表型,使其解离和迁移能力增强。另外,转录因子 Twist、Snail、Slug、Zeb1 和 Zeb2 作为 E-cadherin 的转录阻遏物,可经抑制 E-cadherin 表达而破坏紧密连接和细胞桥粒^[11,14]。研究发现, E-cadherin 的启动子甲基化存在于多种上皮癌细胞中,包括头颈鳞癌、胃癌、肝癌、膀胱癌和肺癌^[10]。在乳腺癌中, E-cadherin 功能的部分或全部丧失与肿瘤细胞失去分化特征、获得侵袭性、发生转移及预后差相关^[13]。

1.2 N-cadherin 促进肿瘤转移

钙黏蛋白切换,即从 E-cadherin 到 N-cadherin 的转换,调节细胞在 EMT 过程中的迁移和侵袭能力。研究表明, N-cadherin 通过激活丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)和磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB)信号转导途径,调控 EMT 标志蛋白质如 E-cadherin 和 vimentin 的转录,从而促进 EMT 发生及肿瘤转移。下调 N-cadherin 表达可显著抑制 Twist、Snail 和 Slug 的表达,而在甲状腺癌细胞 IHH4 中 N-cadherin 的异位表达能够显著上调 Twist 和 Slug 的表达;研究发现,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)与肿瘤转移密切相关,敲低 N-cadherin 表达可下调 MMP-2、MMP-9 和 MMP-14 的转录,表明 N-cadherin 通过调节 EMT 及细胞转移相关基因的转录,促进甲状腺癌细胞转移^[1]。在子宫内膜癌细胞中,肿瘤抑制因子的失活或表观遗传学修饰沉默,同样促进间充质标记物 N-cadherin 的表达^[15]。N-cadherin 高表达与细胞分化抑制、肿瘤的晚期病理分期和淋巴结转移以及更短的疾病特异生存期(disease-specific survival, DSS)和无病生存期(disease-free survival, DFS)显著相关, N-cadherin 可能经介导不稳定的细胞黏附而促进肿瘤转移^[16]。

1.3 Vimentin 促进肿瘤转移

Vimentin 是一种高度保守的相对分子质量为

57 kD 的蛋白质,广泛表达于血管内皮细胞、肾小管细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、成纤维细胞和白细胞,主要表达于间充质细胞^[17]。Vimentin 是一种中间丝蛋白质,是间充质细胞区别于上皮细胞的标志物^[9]。据报道,在卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌^[15]、乳腺癌^[13]、舌鳞状细胞癌^[16]、肺癌^[17]、前列腺癌^[14]细胞中,vimentin 的表达水平与肿瘤细胞的侵袭转移能力呈正相关。Vimentin 涉及肿瘤发生和进展的较多环节,包括肿瘤的起始、EMT 和肿瘤细胞的转移性扩散。Vimentin 是调节 EMT 的重要组分,涉及 EMT 发生和肿瘤进展、细胞迁移和入侵、细胞器(如线粒体)定位和锚定的主要信号转导途径,影响细胞与细胞以及细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)之间的黏附,被认为是细胞运动的重要监管者^[17]。在舌鳞状细胞癌中,vimentin 参与肿瘤发生,并且与细胞分化程度差、淋巴结转移及较短时程的 DSS 和 DFS 显著相关^[16]。Vimentin 通过调节 E-cadherin/ β -catenin 复合物来促进细胞侵袭,其比 E-cadherin/ β -catenin 在肿瘤转移过程中发挥着更加关键的作用^[18]。

1.4 MMPs 促进肿瘤转移

MMPs 可经降解细胞外基质而降低细胞-基质黏附度^[14],呈现对 EMT 的重要调节作用。MMPs 的过表达在肿瘤细胞的迁移和侵袭中起关键作用^[9],主要见于促进乳腺癌、宫颈癌、前列腺癌、肺癌、支气管癌^[15]、肾癌、口腔癌和卵巢癌的转移^[20]。其效应过程基本遵循 MMPs 促进胚胎发育中 EMT 发生的模式,包括细胞黏附破坏、极性丧失和细胞骨架重塑,释放间质特异性 MMPs (MMP-1、MMP-2、MMP-9、MMP-12 和 MMP-13)、降解侵入和传播到特定组织的细胞外基质及诱导基质细胞分泌 MMPs (MMP-7 和 MMP-14),从而增加细胞外基质的降解并促进肿瘤细胞的侵袭转移。此外,MMPs 可经介导蛋白酶水解 E-cadherin 而促进肿瘤细胞侵袭转移。目前,已在卵巢癌、乳腺癌、胃癌和结直肠癌中发现了不同类型的 MMPs 的表达与不良预后相关^[7]。其中,MMP-2 和 MMP-9 特异性降解明胶、胶原蛋白、弹性蛋白和纤连蛋白^[14],是参与 EMT 过程进而诱导肿瘤细胞侵袭和转移相关性最高的两种酶。MMPs 除了发挥肽链内切酶功能促进细胞外基质蛋白质的降解外,也可以切割细胞表面受体并参与生物活性分子的加工,从而促进肿瘤转移^[11]。事实上,所有的 MMPs 均能以一定的速度切割明胶和纤连蛋白,几乎每种 MMP

都能降解含胶原蛋白序列 GPQGIAGQ 的八肽。此外,MMPs 的激活存在多种机制,例如:MMPs 与丝氨酸蛋白酶的相互作用;纤溶酶可以切割 MMPs 的前体,如胶原酶和基质溶素,并将它们激活;MMP-7 可促进低相对分子质量尿激酶原和尿激酶的形成^[21]。

1.5 β -catenin 异位表达促进肿瘤转移

β -catenin 介导钙黏蛋白黏附受体与细胞骨架连接,它与膜上的 E-cadherin 结合,对于 E-cadherin 的定位和功能的发挥至关重要。 β -catenin 也是 Wnt 信号转导通路中的关键要素,Wnt 经典信号通路能够通过抑制糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)介导的磷酸化及抑制胞质中 β -catenin 的降解诱发 EMT,还能作为共转录激活因子作用于靶基因^[22]。 β -catenin 定位于正常上皮细胞和非侵袭性肿瘤细胞的细胞膜中;在经历 EMT 的细胞中, β -catenin 位于细胞质或细胞核中。 β -catenin 在细胞质中的定位反映其与 E-cadherin 分离,细胞质中的游离 β -catenin 易位至细胞核并促进 EMT 诱导性蛋白质的基因转录^[13]。 β -catenin 的表达增强与肿瘤细胞的增殖和迁移相关。据报道,在卵巢癌、人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)诱导的宫颈癌和子宫内膜癌中, β -catenin 在细胞质和细胞核中积累,引起 Wnt/ β -catenin 信号转导通路的改变,使其下游靶基因(EMT 诱导性蛋白质基因)的转录活性增强,进而促进肿瘤细胞的侵袭与转移^[15]。研究表明,上调 β -catenin 表达可增加 EMT 水平;E-cadherin 的功能丧失往往上调 β -catenin 的信号转导活性从而增加 EMT 水平^[23]。EMT 过程中,与 E-cadherin 分离的 β -catenin 在细胞质中积累并转移到细胞核而活化 EMT 相关基因的转录^[24],特别是促进 Snail 转录因子家族成员的表达^[22]。有关细胞 EMT 程序的研究发现 β -catenin 与 Slug 转录因子家族成员之间存在密切关系,经典的 Wnt 信号转导可以通过增加 β -catenin 水平而促进 Slug 表达,从而激活 EMT 程序^[25]。此外,研究发现沉默 β -catenin 的表达可逆转乳腺癌中由类细胞周期素依赖性激酶 2 (cyclin-dependent kinase-like 2, CDKL2)诱导的 EMT^[13]。入核的 β -catenin 通过诱导 Zeb1 的转录上调,继而调节乳腺癌细胞中的 DNA 损伤修复和阿霉素(doxorubicin, DOX)抗性。Zeb1 沉默的 MCF-7/ADR 细胞不能进行 DNA 的损伤修复。长期阿霉素用药能够促进 β -catenin 发生核转位,诱

导肿瘤细胞发生 EMT 转化。已有临床试验报道,以阿霉素为基础的传统治疗方案未能延长胃癌患者的生存期,其关键原因就在于细胞获得阿霉素抗性后诱导了 EMT 的发生,而阻碍 β -catenin 信号的传导可抑制 DOX 诱导的 EMT 和细胞迁移^[18, 26]。

2 EMT 相关转录因子促进肿瘤转移

研究表明某些转录因子的表达上调会促进 EMT 过程,如 Twist、Snail 和 Slug 等家族的转录因子可将部分分化的肿瘤细胞重编程而使其获得干细胞特性^[27]。EMT 相关转录因子异常升高引起的细胞可塑性导致肿瘤迅速发展和治疗效率降低^[28]。EMT 相关转录因子的表达在体细胞组织中被抑制,但在肿瘤发展过程中,由于各种细胞自主途径和微环境的影响,这些 EMT 相关转录因子的表达又被重新启动^[29]。这些转录因子主要是通过抑制肿瘤细胞的衰老和凋亡,并诱导其干性和代谢改变而呈现致癌潜能。已知 Twist 蛋白质能够抑制肿瘤细胞的衰老和凋亡,Snail 和 Zeb 家族蛋白质则主要是抵抗细胞死亡。同时, Twist、Snail 和 Zeb 家族蛋白质也可促进细胞获得细胞干性和诱导细胞恶性转化,Snail 蛋白质可同时促进细胞的代谢改变^[30]。

2.1 Twist 家族转录因子

Twist 是螺旋-环-螺旋(bHLH)结构的转录因子家族成员之一,是一个重要的 EMT 相关转录因子^[31]。Twist (也称 Twist1)和 Twist 相关蛋白质(Twist2)具有广泛的同源性^[32]。Twist1 被认为是 EMT 的重要调节者,它的突变与常染色体显性遗传病 Saethre-Chotzen 综合征的发生相关^[33];肿瘤转移灶中常发现 Twist1 表达异常或其基因的甲基化修饰增加。Twist1 的过表达与前列腺癌、上皮性卵巢癌、尿路上皮癌、膀胱癌、肝细胞癌、胃癌、结肠癌、直肠癌、甲状腺癌、乳腺癌、食管鳞状细胞癌、鼻咽癌、头颈癌、胶质母细胞瘤和慢性髓系白血病等的发展相关^[2, 34]。Twist 在 3 种类型的 EMT 中均被激活,并在肿瘤转移过程中表达上调。Twist 是 E-cadherin 的转录阻遏物,对 N-cadherin 和纤连蛋白的转录呈现诱导作用^[9]。除过表达以外,表观遗传改变(如 Twist1 基因启动子超甲基化)也与不同类型的肿瘤发展相关^[34]。Twist1 基因启动子超甲基化是其重要的表观遗传学特性之一,但 Twist1 基因启动子的超甲基化不一定与 Twist1 的 mRNA 或蛋白质水平相关; Twist1 过表达与其基因启动子超甲基

化似乎是两个独立事件。Twist1 过表达与癌症高等级或侵袭性肿瘤伴随的淋巴结转移或远端转移呈正相关,也与肿瘤的治疗效率降低、肿瘤复发和不良预后呈正相关。因此, Twist1 可能成为一个诊断癌症预后不良的生物标志。目前,该结论已经在乳腺癌、膀胱癌、宫颈癌、食管鳞状细胞癌、头颈癌、结直肠癌、肝细胞癌、黑色素瘤、鼻咽癌和卵巢癌中获得了证实;同时,细胞系和动物模型的研究结果也体现出 Twist1 的肿瘤标志物作用^[2]。

Twist1 作为信号转导分子,既可参与 Akt、信号转导子与转录激活子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、MAPK、Ras、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 和 Wnt 等典型的致癌信号通路的信号转导而介导肿瘤转移,又受核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B)、原肌球蛋白受体激酶 B (tropomyosin receptor kinase B, TrkB)和类固醇受体辅激活物-3 (steroid receptor coactivator-3, SRC-3)等经典的信号转导通路的调控而促进肿瘤的发生发展。Twist1 经下调 E-cadherin 和上调 N-cadherin 表达而促进 EMT 发生;在结直肠癌细胞中, Twist 通过减少 E-cadherin 的表达和增加 vimentin 及 MMP-9 的表达而促进 EMT 进程与细胞侵袭; Twist1 在细胞转移相关的血管发生、外渗、侵袭性伪足生成及血管生成拟态和染色体不稳定等过程中也具有至关重要的作用^[34, 35]。在乳腺癌中, Twist 参与介导肿瘤细胞的激素抗性; Twist 在胰腺肿瘤细胞中表达较低,但在缺氧条件下被激活后则促进肿瘤细胞侵袭转移^[36]。研究表明, Twist1 作为一种存在于多种肿瘤细胞中的转录因子,参与介导肿瘤起始、细胞干性形成、血管生成及细胞侵袭转移和耐药机制^[2]。

2.2 Snail 家族转录因子

Snail 转录因子超家族成员包括 Snail1、Slug (Snail2)和 Scratch, 这些蛋白质都具有 SNAG 结构域和至少 4 个功能性锌指结构^[14]。SNAG 结构域对于蛋白质的核定位及其发挥转录阻遏物的作用是必不可少的^[37]。Snail 和 Slug 均可抑制编码 E-cadherin 的上皮标记基因 *CDH1* 的表达,其中 Snail 是被广泛认可的 E-cadherin 表达抑制因子,可直接抑制 E-cadherin 的转录而共同诱导 EMT 的发生^[38]。此外, Snail 可经调控细胞骨架蛋白质的基因表达而诱导 EMT 发生,并由 EMT 直接诱导与肿瘤转移相关的生物物理变化而促进肿瘤转移^[39];

Snail 也可经诱导 E-cadherin 阻遏物如 Zeb-1 和 Zeb-2 的表达而降低 E-cadherin 的肿瘤转移抑制效应^[40]。在前列腺癌微环境中, Snail 不仅能够与 TGF- β 相互作用, 而且也能与表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)相互作用, 下调人类白细胞抗原 I (human leukocyte antigen, HLA-I) 的表达, 加速前列腺癌进展; 敲低前列腺癌细胞中 Snail 的表达则显著逆转由 TGF- β 和 EGF 作用导致的 HLA-I 表达的下调, 表明 Snail 在 HLA-I 的表达调控中发挥关键作用, Snail 诱导的 EMT 主要经免疫抑制促进细胞转移^[41]。靶向下调 Snail 可逆转 EMT^[42]。有研究认为, Snail 是预防肿瘤转移的有效靶标^[43]。Snail 的高表达与肿瘤恶性程度高及预后差相关, 已成为肝癌、胃癌和膀胱癌的不良预后标志^[44]。此外, Snail 可以招募多种染色质酶, 包括赖氨酸特异性去甲基化酶 1 (lysine specific demethylase 1, LSD1)、组蛋白去乙酰化酶 1/2 (histone deacetylase 1/2, HDAC1/2)、多梳抑制复合物 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2)、常染色质组蛋白赖氨酸 N-甲基转移酶 2 (euchromatic histone-lysine N-methyltransferase 2, EHMT2/G9a) 和花斑抑制因子同源物(suppressor of variegation 3-9 homolog 1, Suv3-9H1), 作用于 E-cadherin 编码基因启动子, 这些酶以高度协调的方式作用于异染色质, 促进启动子区 DNA 甲基转移酶介导的 DNA 甲基化。阻断 Snail 与这些染色质修饰酶之间的连接可能是预防 EMT 相关性肿瘤转移的有效策略^[44]。研究发现, Snail1 的作用还涉及药物/免疫抗性的调节和肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)表型呈现^[14]。

Snail 家族的另一成员 Slug 在 EMT 中也发挥重要作用。下调 Slug 活性可抑制三阴性乳腺癌细胞的转移扩散, 其机制可能是特异性地抑制了乳腺癌细胞的骨归巢和定植^[13]。研究发现, 在正常的乳腺上皮细胞中 Slug 还可以调节细胞分化、细胞可塑性和乳腺干细胞状态。这些 Slug 依赖过程已被证明影响乳腺肿瘤的起始和进展^[37]。研究表明, Slug 是黑色素瘤细胞转移的必需转录因子^[43]。Slug 能够抑制 P53 介导的细胞凋亡并激活肿瘤细胞的干细胞特性, 从而促使肿瘤细胞产生放射抗性; 敲除 Slug 可增加荷瘤小鼠肿瘤细胞的放射敏感性^[30]。Snail 及 Slug 不仅抑制 E-cadherin 表达, 而且下调闭合蛋白、紧密连接蛋白和黏蛋白 1 的表达, 上调 vimentin 和纤连蛋白的表达, 从而形成

完整的 EMT 环境和呈现 EMT 表型^[11, 45]。Snail1 的存在增加了 MMP-2 和 MMP-9 的 mRNA 水平并促进 EMT 的发生, Snail1 和 Slug 共同持续诱导 MMP-9 的表达以维持 EMT 进程^[4]。然而, 同样作为 Snail 家族成员的 Scratch 在 EMT 过程中并未呈现显著作用^[13]。

2.3 Zeb 家族转录因子

Zeb 家族(Zeb1 和 Zeb2)是一组具有锌指结构的转录因子, 其通过下调 E-cadherin 以及紧密连接、间隙连接和桥粒连接的某些组成成分的表达, 上调其他间质标记蛋白质如 vimentin、纤连蛋白、N-cadherin 和 MMPs 的表达, 导致上皮细胞的极性和黏附性丧失, 诱导 EMT 发生, 促进细胞迁移、侵袭和最终转移至远端器官。Zeb 转录因子的编码基因能够被多种信号分子或信号转导途径激活, 如信号分子类固醇激素、缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1)、血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)受体、Ras-胞外信号调节激酶 2-Fos 相关抗原 1 (Ras-extracellular signal-regulated kinase 2-Fos-related antigen 1, Ras-ERK2-Fra1)、NF- κ B 和 Janus 激酶(Janus kinase, JAK)/STAT3 及经典 TGF- β /Smad、Wnt 和 Notch 等信号转导途径^[13, 34]。在针对皮肤黑色素瘤^[46]、甲状腺癌^[47]、卵巢癌、乳腺癌、子宫内膜癌、肺癌、前列腺癌、结肠癌、胆囊癌、胰腺癌和膀胱癌等肿瘤的研究中, 人们发现过表达 Zeb 蛋白质能促进肿瘤细胞的侵袭和转移; 而且表观遗传学改变如启动子高甲基化和 Zeb1 基因的组蛋白修饰均可促进肿瘤细胞转移。已有研究报告, 某些微 RNA (microRNA, miRNA)如 miR-200、miR-183 和 miR-203 能抑制肿瘤细胞的干细胞特性, 而 Zeb 能够降低这些 miRNA 的表达, 从而增加肿瘤细胞的干细胞特性^[34]。

在皮肤黑色素瘤中, 从 Zeb2^{high}/Snail2^{high} 到 Zeb1^{high}/Twist1^{high} 表达模式的切换与肿瘤起始和进展相关^[48]。Zeb1 过表达与肿瘤的恶性程度呈正相关, 特别是上皮衍生癌如乳腺癌和肺癌。Zeb1 作为 EMT 相关转录因子, 经促进 EMT 而促进肿瘤的发生发展和转移^[46]。研究表明, 在胰腺癌和前列腺癌细胞中, Zeb1 促进了 Notch 配体 Jagged1 的表达并通过抑制 miR-200 的表达而活化 Notch 信号转导通路; 在肺癌细胞中, Zeb1 则直接上调

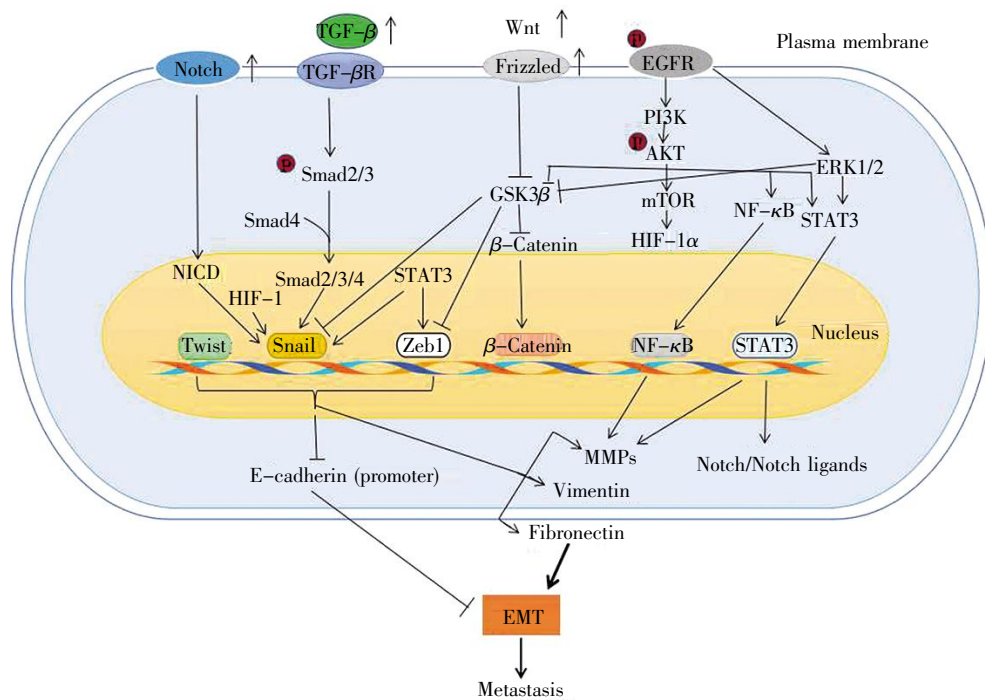


图1 EMT 介导肿瘤转移的分子机制^[30, 34, 35]

Fig.1 The molecular mechanism of epithelial-mesenchymal transition mediating tumor metastasis^[30, 34, 35]

Notch1 表达, 而非调节 Jagged1 的表达, 这提示在不同类型的人类肿瘤细胞中, Zeb1/miR-200 可以通过不同的机制来调节 Notch 信号转导通路^[49]。此外, Zeb1 决定肿瘤干细胞性质, 与肿瘤细胞的放射抗性和耐药性密切相关^[13], 组蛋白去乙酰化酶抑制剂可以逆转 Zeb1 调节的 EMT, 并降低胰腺癌对吉西他滨的耐药性^[50]。在鼻咽癌细胞中, Zeb1 通过激活 DNA 损伤修复途径产生放射抗性而诱导 EMT 的发生^[50]; 在胰腺癌中, Zeb1 与 EMT 和细胞干性维持相关^[51]; 在前列腺癌细胞中, Zeb1 的表达水平与格里森评分相关^[52]。

3 结语

EMT 是胚胎发育和细胞应激所需的关键细胞过程, 其在启动和促进肿瘤细胞转移与侵袭中的作用及机制越来越受到重视。EMT 信号调控网络复杂, 分子调控机制尚未完全清楚。作为肿瘤细胞转移的关键步骤, EMT 在肿瘤诊断、肿瘤分期和肿瘤治疗中都有着重要作用。众所周知, 肿瘤细胞的转移与癌症高发病率和死亡率密切相关, 同时也是成功攻克癌症的主要障碍。因此, 近几年集中于 EMT 在肿瘤细胞迁移侵袭方面的分子机制研究得到了广泛开展。虽然目前对 EMT 在肿瘤细胞迁移侵袭中的作用有了较好的阐述, 但

是关于肿瘤细胞在经历 EMT 后细胞代谢的改变以及对肿瘤干细胞表型、放射抗性的影响及机制知之甚少, 这将是系统阐明 EMT 介导的相关生物学作用的瓶颈。随着高通量及功能蛋白质组学技术研究的快速发展, 人们有望全面阐明参与 EMT 的蛋白质分子的相互作用网络, 这将为减少肿瘤复发、预防肿瘤细胞侵袭和远端转移提供新的研究方向。同时, 明确 EMT 相关蛋白质及转录因子在肿瘤细胞转移中的作用有助于人们对肿瘤的发生和治疗产生新的认知, 为抑制肿瘤发展提供新的研究思路。此外, 利用这些参与 EMT 过程的蛋白质分子发掘新的肿瘤治疗靶点、研发新型诊断试剂和治疗药物可能成为早期诊断和肿瘤治疗的新策略。

参考文献(References):

- [1] Da C, Wu K, Yue C, *et al.* N-cadherin promotes thyroid tumorigenesis through modulating major signaling pathways[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(5): 8131-8142.
- [2] Zhao Z, Rahman M A, Chen Z G, *et al.* Multiple biological functions of Twist1 in various cancers[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 20380-20393.
- [3] Heery R, Finn S P, Cuffe S, *et al.* Long non-coding RNAs: key regulators of epithelial-mesenchymal transition, tumour drug resistance and cancer stem cells[J]. *Cancers*, 2017, 9(4): E38.

- [4] Bogachek M V, De Andrade J P, Weigel R J. Regulation of epithelial–mesenchymal transition through SUMOylation of transcription factors[J]. *Cancer Research*, 2015, 75(1): 11–15.
- [5] Byeon H K, Na H J, Yang Y J, *et al.* Acquired resistance to BRAF inhibition induces epithelial–to–mesenchymal transition in BRAF (V600E) mutant thyroid cancer by c–met–mediated AKT activation[J]. *Oncotarget*, 2016, 8(1): 596–609.
- [6] Li H, Bath I S, Qu X, *et al.* IGF–IR signaling in epithelial to mesenchymal transition and targeting IGF–IR therapy: overview and new insights[J]. *Molecular Cancer*, 2017, 16: 6.
- [7] Pradella D, Naro C, Sette C, *et al.* EMT and stemness: flexible processes tuned by alternative splicing in development and cancer progression[J]. *Molecular Cancer*, 2017, 16: 8.
- [8] Harner–Foreman N, Vadakekolathu J, Laversin S A, *et al.* A novel spontaneous model of epithelial–mesenchymal transition (EMT) using a primary prostate cancer derived cell line demonstrating distinct stem–like characteristics[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 40633.
- [9] Scanlon C S, Van Tubergen E A, Inglehart R C, *et al.* Biomarkers of epithelial–mesenchymal transition in squamous cell carcinoma[J]. *Journal of Dental Research*, 2013, 92(2): 114–121.
- [10] Smith A, Teknos T N, Pan Q. Epithelial to mesenchymal transition in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oral Oncology*, 2013, 49(4): 287–292.
- [11] Felipe Lima J, Nofech–Mozes S, Bayani J, *et al.* EMT in breast carcinoma—a review[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2016, 5(7): 65.
- [12] Yang Q, Cao X, Tao G, *et al.* Effects of FOXJ2 on TGF β 1 induced epithelial–mesenchymal transition through Notch signaling pathway in non–small lung cancer[J]. *Cell Biology International*, 2017, 41(1): 79–83.
- [13] Liu F, Gu L N, Shan B E, *et al.* Biomarkers for EMT and MET in breast cancer: an update[J]. *Oncology Letters*, 2016, 12(6): 4869–4876.
- [14] Kaufhold S, Bonavida B. Central role of Snail1 in the regulation of EMT and resistance in cancer: a target for therapeutic intervention[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2014, 33: 62.
- [15] Zhou X M, Zhang H, Han X. Role of epithelial to mesenchymal transition proteins in gynecological cancers: pathological and therapeutic perspectives[J]. *Tumor Biology*, 2014, 35(10): 9523–9530.
- [16] Liu P F, Kang B H, Wu Y M, *et al.* Vimentin is a potential prognostic factor for tongue squamous cell carcinoma among five epithelial mesenchymal transition–related proteins[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0178581.
- [17] Kidd M E, Shumaker D K, Ridge K M. The role of vimentin intermediate filaments in the progression of lung cancer[J]. *American Journal of Respiratory Cell & Molecular Biology*, 2014, 50(1): 1–6.
- [18] Xu J, Liu D, Niu H, *et al.* Resveratrol reverses doxorubicin resistance by inhibiting epithelial–mesenchymal transition (EMT) through modulating PTEN/Akt signaling pathway in gastric cancer[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2017, 36: 19.
- [19] Xu B, Zhou M, Qiu W, *et al.* CCR7 mediates human breast cancer cell invasion, migration by inducing epithelial–mesenchymal transition and suppressing apoptosis through AKT pathway[J]. *Cancer Medicine*, 2017, 6(5): 1062–1071.
- [20] Martínezramírez A S, Díazmuñoz M, Butandaochoa A, *et al.* Nucleotides and nucleoside signaling in the regulation of the epithelium to mesenchymal transition (EMT)[J]. *Purinergic Signal*, 2017, 13(1): 1–12.
- [21] 吴二喜, 王凤飞, Norman M. 基质金属蛋白酶(英文)[J]. *生命科学研究(Wu Er-xi, Wang Feng-fei, Norman M. Matrix metalloproteinases)*. *Life Science Research*, 1999, 3(3): 175–194.
- [22] Beuran M, Negoi I, Paun S, *et al.* The epithelial to mesenchymal transition in pancreatic cancer: asystematic review[J]. *Pancreatology*, 2015, 15(3): 217–225.
- [23] Xu F, Zhang J, Hu G, *et al.* Hypoxia and TGF β 1 induced PLOD2 expression improve the migration and invasion of cervical cancer cells by promoting epithelial –to–mesenchymal transition (EMT) and focal adhesion formation[J]. *Cancer Cell International*, 2017, 17: 54.
- [24] Hahn J M, McFarland K L, Combs K A, *et al.* Partial epithelial–mesenchymal transition in keloid scars: regulation of keloid keratinocyte gene expression by transforming growth factor β 1[J]. *Burns & Trauma*, 2016, 4: 30.
- [25] Rui L, Dong T, Chen H, *et al.* Salinomycin repressed the epithelial –mesenchymal transition of epithelial ovarian cancer cells via downregulating Wnt/ β –catenin pathway[J]. *Oncotargets & Therapy*, 2017, 10: 1317–1325.
- [26] Wang C, Jin H, Wang N, *et al.* Gas6/Axl axis contributes to chemoresistance and metastasis in breast cancer through Akt/GSK– 3β –catenin signaling[J]. *Theranostics*, 2016, 6(8): 1205–1219.
- [27] Mladinich M, Ruan D, Chan C H. Tackling cancer stem cells via inhibition of EMT transcription factors[J]. *Stem Cells International*, 2016, 2016: 5285892.
- [28] Fabregat I, Malfettone A, Soukupova J. New insights into the crossroads between EMT and stemness in the context of cancer[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2016, 5(3): 37.
- [29] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2014, 15(3): 178–196.
- [30] Lee S Y, Jeong E K, Ju M K, *et al.* Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation[J]. *Molecular Cancer*, 2017, 16: 10.
- [31] Yin K, Liao Q, He H, *et al.* Prognostic value of Twist and E–cadherin in patients with osteosarcoma[J]. *Medical Oncology*, 2012, 29(5): 3449–3455.
- [32] Šošić D, Richardson J A, Yu K, *et al.* Twist regulates cytokine gene expression through a negative feedback loop that represses NF– κ B activity[J]. *Cell*, 2003, 112(2): 169–180.
- [33] Wei C, Cheng J, Zhou B, *et al.* Tripartite motif containing 28 (TRIM28) promotes breast cancer metastasis by stabilizing TWIST1 protein[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 29822.

- [34] Tania M, Khan M A, Fu J. Epithelial to mesenchymal transition inducing transcription factors and metastatic cancer[J]. *Tumor Biology*, 2014, 35(8): 7335–7342.
- [35] Chen J, Yuan W, Wu L, *et al.* PDGF-D promotes cell growth, aggressiveness, angiogenesis and EMT transformation of colorectal cancer by activation of Notch1/Twist1 pathway[J]. *Oncotarget*, 2016, 8(6): 9961–9973.
- [36] Khan M A, Chen H C, Zhang D, *et al.* Twist: a molecular target in cancer therapeutics[J]. *Tumor Biology*, 2013, 34(5): 2497–2506.
- [37] Phillips S, Kuperwasser C. SLUG: critical regulator of epithelial cell identity in breast development and cancer[J]. *Cell Adhesion & Migration*, 2014, 8(6): 578–587.
- [38] Barrallogimeno A, Nieto M A. The Snail genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer[J]. *Development*, 2005, 132(14): 3151–3161.
- [39] McGrail D J, Mezencev R, Kieu Q M, *et al.* SNAIL-induced epithelial-to-mesenchymal transition produces concerted biophysical changes from altered cytoskeletal gene expression[J]. *FASEB Journal*, 2015, 29(4): 1280–1289.
- [40] Smith B N, Oderomarah V A. The role of Snail in prostate cancer[J]. *Cell Adhesion & Migration*, 2012, 6(5): 433–441.
- [41] Montanari M, Rossetti S, Cavaliere C, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer: an overview[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(21): 35376–35389.
- [42] Muqbil I, Wu J, Aboukameel A, *et al.* Snail nuclear transport: the gateways regulating epithelial-to-mesenchymal transition?[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2014, 27(8): 39–45.
- [43] Wang Y, Shi J, Chai K, *et al.* The role of Snail in EMT and tumorigenesis[J]. *Current Cancer Drug Targets*, 2013, 13(9): 963–972.
- [44] Lin Y, Dong C, Zhou B P. Epigenetic regulation of EMT: the Snail story[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2014, 20(11): 1698–1705.
- [45] Yang H W, Lee S A, Shin J M, *et al.* Glucocorticoids ameliorate TGF- β 1-mediated epithelial-to-mesenchymal transition of airway epithelium through MAPK and Snail/Slug signaling pathways[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 3486.
- [46] Yao C, Lu X, Montoyadurango D E, *et al.* ZEB1 regulates multiple oncogenic components involved in uveal melanoma progression[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 45.
- [47] Li S, Zhang H Y, Du Z X, *et al.* Induction of epithelial-mesenchymal transition (EMT) by Beclin 1 knockdown via posttranscriptional upregulation of ZEB1 in thyroid cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(43): 70364–70377.
- [48] Caramel J, Papadogeorgakis E, Hill L, *et al.* A switch in the expression of embryonic EMT-inducers drives the development of malignant melanoma[J]. *Cancer Cell*, 2013, 24(4): 466–480.
- [49] Zhang T, Guo L, Creighton C J, *et al.* A genetic cell context-dependent role for ZEB1 in lung cancer[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12231.
- [50] Meidhof S, Brabletz S, Lehmann W, *et al.* ZEB1-associated drug resistance in cancer cells is reversed by the class I HDAC inhibitor mocetinostat[J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2015, 7(6): 831–847.
- [51] Zhou P, Li B, Liu F, *et al.* The epithelial to mesenchymal transition (EMT) and cancer stem cells: implication for treatment resistance in pancreatic cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2017, 16: 52.
- [52] Sekhon K, Bucay N, Majid S, *et al.* MicroRNAs and epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(41): 67597–67611.