

上皮间质转化在肿瘤发生发展中的作用

Role of Epithelial Mesenchymal Transition in Cancer Carcinogenesis and Progression

HUI Qi-yuan, WEI Xiao-ping

惠起源, 魏晓萍

(延安大学附属医院, 陕西 延安 716000)

摘要: 上皮间质转化(EMT)是指上皮细胞向间质细胞转化的现象。EMT与恶性肿瘤的发生、发展、侵袭及转移有着密切的关系, 深入研究与EMT形成有关的信号通路及多种转录因子, 将有利于人们寻找阻断EMT过程、治疗肿瘤的新方法。

关键词: 上皮间质转化; 肿瘤; 信号通路; 治疗

中图分类号: R730.23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2013)03-0219-04

上皮间质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞向间质细胞转化的现象。在这一过程中, 上皮细胞失去极性、细胞间粘附连接等上皮表型特征, 转化为具有高迁移、侵袭、抗凋亡及降解细胞外基质等特征的间质细胞。研究表明, EMT在恶性肿瘤的发生、发展、侵袭及转移过程中起着关键作用。因此, 了解EMT的发生及EMT与肿瘤的关系对肿瘤的防治有着重要的意义。

1 EMT事件的标志物及相关转录因子

在EMT过程中, 不仅细胞表型由上皮细胞转化为间质细胞, 而且细胞标志物也发生了变化^[1]: 上皮标志物如E-钙黏蛋白(E-cadherin, E-cad)、细胞角蛋白等表达降低; 间质标志物如N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白、纤维结合蛋白、平滑肌肌动蛋白等表达增加。E-cad是维持上皮表型的重要粘附分子, 对细胞间粘附作用与细胞极性起决定性作用。肿瘤细胞E-cad表达下降或缺失在EMT中不仅被认为是癌细胞失去上皮特征的金标准, 同时也是促进肿瘤转移的重要表现。

在EMT发生过程中, E-cad表达下调主要发生

在转录水平上。抑制E-cad转录的因子包括Snail (Snail-1)、Slug(Snail-2)、ZEB、Twist、SIP1等, 这些因子通过抑制E-cad的表达诱导EMT^[2]。

2 与EMT形成有关的信号通路

2.1 Hedgehog(Hh)信号通路

Hh信号通路主要包括以下几个成员: 配体Hh(存在3个同源基因: SHh、Dhh、Ihh)、膜受体Ptch (Ptch1、Ptch2)和Smo、下游转录因子Gli(Gli1、Gli2、Gli3)。研究发现在胰腺癌中, Hh信号通路主要以SHh-Gli1形式存在^[3]。一般情况下, Ptch和Smo形成复合物并抑制Smo活性, Hh通路激活时, SHh和Ptch结合, 解除了对Smo的抑制作用, Smo激活下游Gli家族, Gli参与EMT转录因子的调节, 从而调控EMT过程。Ohta等^[4]研究了胃隐窝细胞和弥漫性胃癌细胞的SHh和EMT, 认为调节EMT的主要基因SIP1是Hh通路中转录因子Gli1的靶基因。Hh通路除了本身可影响EMT形成以外, 还可通过与其他一些信号通路的交互作用诱导EMT的发生。有学者报道^[5], Hh信号转导可直接上调Notch的配体JAG2, JAG2与Notch结合后激活Notch信号通路, 进而抑制E-cad表达, 诱导EMT。

2.2 Smad和Non-Smad信号通路

EMT受许多细胞因子的调节, 但转化生长因

收稿日期: 2012-11-23

基金项目: 延安市科技计划项目(2009ks-07)

E-mail: yyweixiaoping@gmail.com

子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 是诱导 EMT 的主要因子之一。TGF- $\beta 1$ 主要通过 Smad 和 Non-Smad 信号转导途径参与 EMT 的发生。

Smad 家族主要有 3 种类型:受体调节型 (R-Smads)、协同作用型 (Co-Smads) 和抑制作用型 (I-Smads)。R-Smads 包括 Smad1、2、3、5、8; Co-Smads 包括 Smad4; I-Smads 包括 Smad6 和 7。I-Smads 可抑制 Smad1、2、3、5、8 信号途径; R-Smads 被 TGF- β 激活后与 Co-Smad 形成复合物, 进入细胞核内调节靶基因。TGF- β 通过受体激活 Smad 通路的同时, 还可激活 Erk、JNK、p38、MAPK、PI3K、GTPase 等细胞因子进行 Non-Smad 信号通路。Non-Smad 信号通路主要包括 Erk Non-Smad 通路、JNK/p38 non-Smad 通路和 GTPase Non-Smad 通路。TGF- β 通过激活 Smad 和 Non-Smad 信号通路使 Snail、SIPI1、 δ EF1 表达量增加, 使抑制分化剂 (Id) 蛋白表达抑制, 进而促进细胞的 EMT^[6]。Papageorgis 等^[7]在乳腺细胞株的研究中发现通过激活 TGF β -TGF β R (TGF- β 受体)-Smad2 信号通路可促进 EMT 发生。

2.3 磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路

Moustakas 等^[8]发现 PI3K/AKT 信号通路及 p38 MAPK 信号通路能直接影响 Snail、Slug 和 Twist 等下游靶基因的转录, 调控上皮基因的表达, 诱导 EMT 的发生。在 PI3K/AKT 通路中, PI3K 激活的结果是在质膜上产生第二信使 PIP3, 继而使 AKT 活化^[9], AKT 是重要的蛋白激酶, 是 PI3K/AKT 信号通路的核心, AKT 活化可上调 Snail 和 β -catenin, 导致 EMT 发生^[10,11]。还有学者报道在单侧输尿管梗阻大鼠模型中, Snail mRNA 表达增高依赖于 MAPK 和 PI3K 的活性^[12]。

2.4 Wnt 信号通路

Wnt 信号通路可分为经典信号通路和非经典信号通路。经典的 Wnt 信号通路即 Wnt/ β -catenin 通路, 该通路成员包括细胞外因子 Wnt、跨膜受体、 β -catenin、降解复合物以及转录因子即 T 细胞因子/淋巴增强因子 (T cell factor/lymphoid enhancing factor, TCF/LEF)。非经典的 Wnt 通路主要分为两条: ① Wnt/ Ca^{2+} 通路; ② 细胞平面极性通路, 该通路主要通过 Rho 家族蛋白中的 RhoA 和 Cdc42 等激活。

Zhao 等^[11]研究发现, Wnt/ β -catenin 通路可能通

过直接控制缺氧诱导因子-1 α 来诱导 EMT 的发生。Iwai 等^[13]报道, 在口腔鳞状细胞癌胞质中堆积大量 β -catenin, 并且 Rho 家族中的 Cdc42 和 Rac 水平也增加, 它们通过诱导 EMT, 提高癌细胞侵袭和迁移。所以, EMT 的产生有时是由 Wnt 的经典和非经典通路共同诱导的。Xu 等^[14]发现, Wnt 通路还能与 TGF β /Smad 通路中的物质相互作用, 调节 Snail1 因子抑制 E-cad 表达, 激活 β -catenin/TCF/LEF1, 间接导致间质细胞基因产物的表达, 参与 EMT 的发生。

2.5 其他通路

除了上述通路以外, 还有其他一些通路也可诱导 EMT 的发生, 如 NF- κ B 信号通路、Notch 信号通路、环氧合酶途径等。

3 EMT 与肿瘤发生、发展的关系

有证据表明, 在多数肿瘤的原位、恶性肿瘤细胞向周围组织侵袭和远处器官转移的过程中均存在 EMT 现象^[15]。动物实验研究发现^[16], 增加基质金属蛋白酶-3 (matrix metalloproteinase 3, MMP-3) 的表达能诱发乳腺癌细胞发生 EMT, 进而增加其侵袭转移能力。Bonnomet 等^[17]报道, 在 EMT 进行过程中, 细胞的转移能力和侵袭能力增加, 抵抗凋亡和细胞衰老, 因而形成远端的肿瘤。大量研究表明^[18], E-cad 在多种人体恶性肿瘤细胞中常呈低表达, 且低表达组比高表达组侵袭能力强, 表明 E-cad 低表达与肿瘤的分化、侵袭和转移有显著性相关。

Snail 是锌指转录抑制因子家族中的一员, 能强烈抑制 E-cad mRNA 表达, 通过促进 EMT 来影响生物胚胎发育和肿瘤的发生发展^[19]。Hanan 等^[20]发现, EMT 转录因子 Snail 过表达与乳腺浸润性导管癌低分化、淋巴结转移相关。Song 等^[18]也报道, Snail 在诱导 EMT 发生的过程中, 提高了肿瘤细胞迁徙和侵袭能力, 有利于肿瘤侵袭和向远处扩散, 因而导致癌症患者预后不良。有研究发现^[21], 小鼠胰腺癌模型的肺转移灶有 EMT 倾向, 即上皮标志物 E-cad 表达的缺失和间质细胞特征性基因 Snail 表达的上调。E-cad 在 EMT 中下调, 通常与“钙黏连蛋白转换”相关, 最终诱导非上皮性钙黏蛋白产生, 如 N-钙黏蛋白, 间质细胞高表达 N-钙黏蛋白与癌症侵袭转移及临床预后较差相关^[22]。Chaffer 等^[23]报道, EMT 的发

生可使上皮细胞失去细胞极性,破坏细胞间连接,使细胞具有迁移和侵入能力。EMT 还可使细胞具有高度的抗凋亡能力,使得癌细胞在从原发肿瘤转移到扩散位点的过程中得以生存。在绝大多数肿瘤中均存在着低氧微环境,肿瘤对低氧微环境的适应性主要由缺氧诱导因子-1 α 调节。缺氧诱导因子-1 α 可激活 Slug 并诱导膜型基质金属蛋白酶(membrane-type matrix metalloproteinases, MT-MMPs)家族中的 MT4-MMP 的形成,而 MT4-MMP 则可促进 EMT 的发生。研究证实,MT4-MMP 在 Slug 或缺氧诱导因子-1 α 所介导的肺癌细胞的生长、侵袭和转移中起关键作用^[24]。

4 与 EMT 有关的抗肿瘤治疗

Wnt/ β -catenin 信号通路是诱导 EMT 发生的重要途径之一,而 EMT 又与肿瘤的发生发展密切相关。因此,药物阻断 Wnt 通路是抗肿瘤治疗的新方法。舒林酸可通过下调 β -catenin 抑制肝癌细胞的 Wnt 信号通路,下调原癌基因细胞周期素(cyclin)D1 的表达^[25]。在乳腺癌小鼠肺转移模型中,通过 LRP6 抑制 Wnt 信号通路能减少肿瘤干细胞产生及逆转 EMT,从而恢复上皮细胞表型、抑制 Slug 及 Twist 表达^[26]。有学者报道^[27],Hh 信号通路特异阻断剂环靶明能有效阻断人胃癌 SGC-7901 细胞 *Gli1* mRNA 的转录,使胃癌细胞的侵袭能力及异质粘附能力均明显减弱。Zhang 等^[28]研究发现,新的 Hh 抑制剂 CUR-0199691 对雌激素受体阳性与阴性的乳腺癌细胞都具有抑制作用。还有学者报道^[29],糖皮质激素——地塞米松能抑制 TGF 诱导的 EMT 过程及细胞迁移,可能阻止肿瘤转移。另外,糖皮质激素可调节机体的免疫功能从而遏制肿瘤的发生,但该药对机体的不良反应较大,所以治疗时应慎用。周明利等^[30]发现, RNA 干扰沉默缺氧诱导因子-1 α 基因后,可导致结肠直肠癌 SW480 细胞中 Snail 低表达、E-cad 高表达,进而抑制结肠直肠癌 SW480 细胞的 EMT 过程及体外生长增殖和侵袭迁移能力。有研究表明^[31],多柔比星能诱导乳腺癌 MCF-7 细胞系 Twist 表达,介导 EMT 发生、多药耐药及肿瘤侵袭性,而小干扰 RNA 介导的 Twist 沉默能明显下调多柔比星化疗抵抗性及降低 p53 活性。

5 结 语

上皮细胞发生 EMT 获得间质细胞特性,在肿瘤的演变中扮演了重要的角色。EMT 的发生与多个信号转导途径的激活有关。深入研究 EMT 的信号转导途径及多种转录因子在 EMT 发生及肿瘤生长、浸润、转移中的作用,将有利于人们寻找阻断 EMT 过程、治疗肿瘤的新方法。

参考文献:

- [1] Jang MJ, Baek SH, Kim JH. UCH-L1 promotes cancer metastasis in prostate cancer through EMT induction[J]. *Cancer Lett*, 2011, 302(2):128-135.
- [2] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. *Cell*, 2009, 139(5):871-890.
- [3] Quint K, Stintzing S, Alinger B, et al. The expression pattern of PDX-1, SHH, Patched and Gli-1 is associated with pathological and clinical features in human pancreatic cancer[J]. *Pancreatol*, 2009, 9(1-2):116-126.
- [4] Ohta H, Aoyagi K, Fukaya M, et al. Cross talk between hedgehog and epithelial-mesenchymal transition pathways in gastric pit cells and in diffuse-type gastric cancers[J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(2):389-398.
- [5] Sahlgren C, Gustafsson MV, Jin S, et al. Notch signaling mediates hypoxia-induced tumor cell migration and invasion[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(17):6392-6397.
- [6] Shirakihara T, Saitoh M, Miyazono K. Differential regulation of epithelial and mesenchymal markers by δ EF1 proteins in epithelial mesenchymal transition induced by TGF- β [J]. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(9):3533-3544.
- [7] Papageorgis P, Lambert AW, Ozturk S, et al. Smad signaling is required to maintain epigenetic silencing during breast cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(3):968-978.
- [8] Moustakas A, Heldin CH. Signaling networks guiding epithelial-mesenchymal transitions during embryogenesis and cancer progression[J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(10): 1512-1520.
- [9] Guo L, Wang Q. Expression and significance of PI3K, Akt and PTEN in gastrointestinal stromal tumors[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2012, 20(7):1401-1405. [郭琳, 王强. PI3K、AKT 以及 PTEN 在胃肠道间质瘤中的表达及意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(7):1401-1405.]
- [10] Xu J, Tang M, Cao Y. Epithelial-mesenchymal transitions and invasion and metastasis of tumor[J]. *International Journal of Pathology and Clinical Medicine*, 2008, 28(6):504.

- [11] Zhao JH, Luo Y, Jiang YG, et al. Knockdown of beta-Catenin through shRNA cause a reversal of EMT and metastatic phenotypes induced by HIF-1 alpha[J]. *Cancer Invest*, 2011, 29(6):377-382.
- [12] Yoshino J, Monkawa T, Tsuji M, et al. Snail1 is involved in the renal epithelial-mesenchymal transition[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362(1):63-68.
- [13] Iwai S, Yonekawa A, Harada C, et al. Involvement of the Wnt-beta-catenin pathway in invasion and migration of oral squamous carcinoma cells[J]. *Int J Oncol*, 2010, 37(5):1095-1103.
- [14] Xu J, Iamouine S, Derynck R. TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition[J]. *Cell Res*, 2009, 19(2):156-172.
- [15] Li Y, Wang W, Wang W, et al. Correlation of TWIST2 up-regulation and epithelial-mesenchymal transition during tumorigenesis and progression of cervical carcinoma [J]. *Gynecol Oncol*, 2012, 124(1):112-118.
- [16] Blavier L, Lazaryev A, Shi XH, et al. Stromelysin-1 (MMP-3) is a target and a regulator of Wnt1-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT)[J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2010, 10(2):198-208.
- [17] Bonnomet A, Brysse A, Tachsidis A, et al. Epithelial-to-mesenchymal transitions and circulating tumor cells[J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2010, 15(2):261-273.
- [18] Song IS, Wang AG, Yoon SY, et al. Regulation of glucose metabolism-related genes and VEGF by HIF-1 alpha and HIF-1 beta, but not HIF-2 alpha, in gastric cancer[J]. *Exp Mol Med*, 2009, 41(1):5158.
- [19] Wu Y, Zhou BP. TNF- α /NF- κ B/snail pathway in cancer cell migration and invasion[J]. *British Journal of Cancer*, 2010, 102(4):639-644.
- [20] Hanan MA, Nasser MZ. Expression of e-cadherin, n-cadherin and snail and their correlation with clinicopathological variants: an immunohistochemical study of 132 invasive ductal breast carcinomas in Egypt[J]. *Clinics*, 2011, 66(10):1765-1771.
- [21] Von Burstin J, Eser S, Paul MC, et al. E-cadherin regulates metastasis of pancreatic cancer in vivo and is suppressed by a SNAI1/HDAC1/HDAC2 repressor complex [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(1):361-371.
- [22] Shah GV, Muralidharan A, Gokulgandhi M, et al. Cadherin switching and activation of beta-catenin signaling underlie proinvasive actions of calcitonin-calcitonin receptor axis in prostate cancer[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (2):1018-1030.
- [23] Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis[J]. *Science*, 2011, 331(6024):1559-1564.
- [24] Huang CH, Yang WH, Chang SY, et al. Regulation of membrane-type 4 matrix metalloproteinase by slug contributes to hypoxia-mediated metastasis[J]. *Neoplasia*, 2009, 11(12):1371-1382.
- [25] Huang WP, Huang YH, Chen ZX, et al. Effect of Sulindac on Wnt signaling in hepatocellular carcinoma cells transfected with HBV X gene[J]. *Chin J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 19(8):703-707.
- [26] Dimeo TA, Anderson K, Phadke P, et al. A novel lung metastasis signature links Wnt signaling with cancer cells self-renewal and epithelial-mesenchymal transition in basal like breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(13):5364-5373.
- [27] Hao YQ, Ouyang XB, Dai JB, et al. Role of Hedgehog signaling pathway in invasion and metastasis of gastric cancer and relevant molecular mechanism [J]. *Chinese Journal of Biologicals*, 2012, 25 (2): 171-175.[郝亚琴, 欧阳小波, 代剑波, 等.Hedgehog 信号通路在胃癌侵袭转移中的作用及分子机制 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2012, 25(2): 171-175.]
- [28] Zhang X, Harrington N, Moraes RC, et al. Cyclopamine inhibition of human breast cancer cell growth independent of Smoothed (Smo)[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 115(3):505-521.
- [29] Zhang L, Lei W, Wang X, et al. Glucocorticoid induces mesenchymal-to-epithelial transition and inhibits TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and cell migration[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(22):4646-4654.
- [30] Zhou ML, Lu XZ, Zhang LZ, et al. Role of HIF-1 α gene silencing in hypoxia and epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer SW480 cells[J]. *Journal of Practical Oncology*, 2012, 27(3):226-232.[周明利, 卢先州, 张留柱, 等.基因沉默 HIF-1 α 在结直肠癌 SW480 细胞的缺氧与上皮-间质转化中的作用[J]. *实用肿瘤杂志*, 2012, 27(3): 226-232.]
- [31] Liq Q, Xu JD, Wang WJ, et al. Twist1-mediated adriamycin induced epithelial-mesenchymal transition relates to multidrug resistance and invasive potential in breast cancer cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(8):2657-2665.