

上皮-间质转化在恶性肿瘤中发生机制的研究进展

陈文浩, 杨明, 张艳桥

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:研究表明肿瘤细胞发生上皮-间质转化(EMT)时所涉及的分子机制相当复杂,涉及到的信号通路在转录、翻译和翻译后水平均发挥调控作用。全文就 EMT 在恶性肿瘤中发生机制的研究进展作一综述。

关键词:上皮-间质转化;恶性肿瘤;机制

中图分类号:R73 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2016)01-0051-07

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2016.01.A010

Research Progress in Carcinogenesis Mechanism of Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer

CHEN Wen-hao, YANG Ming, ZHANG Yan-qiao

(Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150086, China)

Abstract: Researches showed that there are complex molecular mechanism in epithelial-mesenchymal transition(EMT) of tumor cells. These signaling pathways involved in EMT play regulation roles in the transcriptional, translational and post-translational levels. The recent progress in carcinogenesis mechanism of EMT in cancer was discussed in this paper.

Key words: epithelial-mesenchymal transition; cancer; mechanism

癌症已成为全球棘手的公共卫生问题之一,也是导致全球人口死亡的主要原因。而肿瘤发生远处转移是癌症患者死亡的主要原因。肿瘤细胞发生远处转移是一个涉及多个步骤的过程,包括上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、局部侵袭、进入血管、通过血管迁移、外渗和在其他组织定植等,而 EMT 是肿瘤细胞发生远处转移的先决条件。因此,近年来关于 EMT 在恶性肿瘤转移过程中的发生机制研究较多,本文对 EMT 在恶性肿瘤中的发生机制的研究进展作一综述。

1 EMT 概述

上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞逐渐失去其上皮分化特性

并获得间质表型的过程,在这一过程中上皮细胞之间的粘附作用和顶面-底侧极性逐渐消失,取而代之的是细胞骨架和形状的改变、细胞足突和运动能力的增加以及迁移和侵袭能力的提高。在胚胎发育形成器官的过程中,细胞可通过 EMT 作用从初生组织扩散、迁移至另一组织继续生长和分化。此外,在伤口愈合、组织纤维化和肿瘤转移过程中 EMT 可被再次激活^[1,2]。

2 EMT 分子机制

上皮细胞发生 EMT 时所涉及的分子机制相当复杂,并且涉及到的信号通路在转录、翻译和翻译后水平均发挥调控作用。

2.1 转录因子与 EMT

转录因子可通过抑制上皮表型基因和诱导间质表型基因的表达发挥促进 EMT 的作用,主要包括

收稿日期:2015-04-07;修回日期:2015-06-05

通讯作者:张艳桥, E-mail: yanqiaozhang@126.com

Snail、碱性螺旋—环—螺旋(bHLH)和E盒结合锌指蛋白等。

2.1.1 Snail 转录因子

脊柱动物的 Snail 蛋白有三种,其中 Snail1(又称 Snail)和 Snail2(又称 Slug)在胚胎发育、组织纤维化和肿瘤转移过程中可激活 EMT 过程,通过与靶基因序列上的 E 盒羧基末端的锌指结构域结合,抑制上皮表型基因的表达。例如,Snail1 能与 *E-cadherin* 基因启动子区附近的 E 盒序列结合,使组蛋白甲基化,从而抑制了 *E-cadherin* 基因的表达^[3]。Snail1 还可激活间质表型基因的表达,从而发挥促进 EMT 的作用。

多条分子信号通路均可通过激活 Snail2 的表达,发挥促进 EMT 的作用。例如,高迁移率族蛋白 A2(HMGA2)可直接与 Snail2 的启动子结合,上调 Snail2 表达,进而诱导 EMT 的发生^[4]。

有些信号通路可通过调节翻译后的修饰来调控 Snail1 蛋白的定位和降解,从而控制其活性。例如,Wnt 信号通路和 PI3K-Akt 信号通路可抑制 GSK3 β 对 Snail1 的磷酸化作用,抑制了 Snail1 的出核与降解,增加了 Snail1 的稳定性,从而抑制了 *E-cadherin* 基因的转录活性,促进 EMT 的发生。此外,抑癌基因 p53 可募集 Snail2 并使其降解,从而抑制 EMT 的发生。

2.1.2 bHLH 转录因子

bHLH 转录因子是谱系特化和分化过程中的主要调节因子,其中 E12、E47、Twist1、Twist2 以及分化抑制因子(inhibitor of differentiation, ID)蛋白在 EMT 的发生、发展过程中具有关键作用^[5]。与 Snail 一样, Twist 也可下调上皮表型基因的表达,并激活间质表型基因的表达。在肿瘤细胞中, Twist1 可通过使组蛋白甲基化抑制 *E-cadherin* 的启动子、激活 *N-cadherin* 的启动子,从而抑制 *E-cadherin* 的表达,并诱导 *N-cadherin* 的表达,促进 EMT 的发生^[6];与 Twist1 相比, Twist2 具有更强的诱导 EMT 的作用^[7]。

在肿瘤的发生、发展过程中有多条信号通路激活 Twist 的表达,其中,缺氧诱导因子 1 α (HIF1 α)在低氧环境中可诱导 Twist 的表达,从而促进 EMT 的发生和肿瘤细胞的扩散^[8]。此外, TGF β 可通过抑制 ID 基因的表达,解除了 ID 蛋白对 Twist 的抑制作用,增加了 Twist 在 EMT 过程中的活性。

与 Snail 一样, Twist1 的稳定性也受磷酸化作用的调控, MAPK 可使 Twist1 发生磷酸化,使其免受泛素化作用而被降解,从而增加了其活性,促进 EMT 的发生。

2.1.3 Zeb 转录因子

脊柱动物的 Zeb 转录因子有两种形式: Zeb1 和 Zeb2,它们可与靶基因序列的 E 盒结合发挥抑制或激活转录的作用,进而抑制某些上皮连接与极性表型基因的表达、激活间质表型基因的表达,促进 EMT 的发生。Zeb 调节的转录抑制作用常需要募集羧基端结合蛋白(CTBP)辅阻遏物,而 Zeb1 也能与转录辅激活因子 p300/CBP 相关因子(PCAF)发生作用,使其由转录抑制因子转变为转录激活因子。此外, Zeb1 还可募集、连接特溶脱甲基酶 1(LSD1),促进 EMT 过程中的组蛋白脱甲基作用。

Snail1 能直接靶向作用于 Zeb1 基因,并激活 Zeb1 基因的表达,同时, Twist1 和 Snail1 也可通过协同作用诱导 Zeb1 的表达^[9]。Wnt 信号通路、TGF β 信号通路以及 MAPK 信号通路也能诱导 Zeb 基因的表达^[10-12],而且 MAPK 信号通路能通过激活 ETS1 促进 TGF- β 信号对 Zeb 基因表达的诱导作用。此外,微小 RNA(miRNA)能在转录后水平上抑制 Zeb 基因的表达^[13];PRC2 也可在翻译后水平上使 Zeb2 苏素化,阻止其与 CTBP 之间的联系,并促进其在细胞质中的定位,从而减弱了 Zeb2 对上皮表型基因表达的抑制作用。

2.1.4 其他转录因子

除了目前已经明确的 EMT 相关转录因子外,其他转录因子对 EMT 也具有诱导或调节作用,如 FOX^[14]和 SOX^[15,16]转录因子等,其中 SOX 转录因子可增强 Snail1 或 Snail2 对 EMT 的诱导作用^[15],但是,它们在 EMT 过程中的确切机制并不清楚,仍需大量的研究进一步验证。

2.2 EMT 在 RNA 水平上的调节

除了 EMT 相关转录因子对基因表达的直接作用外, RNA 水平的改变也可以调节 EMT 过程。新生 RNA 通过差异剪接形成不同的 mRNA、编码出结构和功能不同的蛋白质,以及 miRNA 可调节基因转录的降解,进而调节 EMT 关键蛋白的活性。

2.2.1 可变剪接与 EMT

与上皮细胞相比,间质细胞的 mRNA 在剪接过

程中发生广泛的变化,编码出各种各样的蛋白质异构体,进而调控 EMT 的发生^[17]。上皮剪接调节蛋白(ESRP)1 和 2 属于 RNA 结合蛋白,控制着许多基因转录的剪接过程,在 EMT 过程中两者的表达量迅速下调,导致间质细胞蛋白异构体的产生,促进相关信号通路的改变,进而提高细胞的侵袭能力^[18]。此外,SRSF1 剪接因子和 RNA 结合蛋白 FOX1 同源物 2(RBFOX2)也可诱导多种剪接的改变,有助于 EMT 的发生和细胞侵袭能力的提高^[19]。

2.2.2 miRNA 与 EMT

非编码 miRNA 可选择性地与 mRNA 结合,抑制其翻译或促进其降解,进而调控靶基因的表达,其中有些 miRNA 参与调控 EMT 主要转录因子的表达。例如,miR-29b^[20]和 miR-30a^[21]可抑制 Snail1 的表达,因此,提高 miR-29b 的表达可逆转 EMT 过程、降低细胞的侵袭能力。此外,miR-1 和 miR-200b 可抑制 Snail2 的表达,而 Snail2 也可抑制 miR-1 和 miR-200b 的表达,从而出现双重负反馈调节机制^[22],相似的反馈调节环路也出现在 miR-34 与 Snail1 之间^[23]以及 miR-203 与 Snail1 之间^[24]。

miR-200 和 miR-205 可抑制 Zeb1 和 Zeb2 mRNA 的翻译,并且在 miR-200 与 Zeb 之间也可出现双重负反馈调节机制。在 EMT 的过程中,miR-200 表达的下降可提高 Zeb1 和 Zeb2 的水平,进而促进 EMT 的进程。此外,抑癌基因 p53 可通过上调 miR-200 和 miR-192 的表达,减少 Zeb1 和 Zeb2 的表达,从而抑制了肝癌细胞发生 EMT^[25]。

miRNA 除了可以调控 EMT 主要转录因子的表达外,还可调控上皮表型或间质表型基因的表达,包括编码黏附连接蛋白、极性复合体蛋白和多种信号分子的基因。例如,在乳腺癌中,提高 miR-9 的表达可抑制 E-cadherin 的表达,增加了细胞的迁移和侵袭能力^[26];在胃癌细胞中,miR-194 可通过下调转录因子 FoxM1 的表达,抑制 EMT 的发生,进而减弱了细胞的迁移和侵袭能力^[27],而且在晚期胃癌组织中 miR-194 的表达量有所下降^[28]。许多 miRNA 可通过调节 RhoA 的表达,影响肌动蛋白结构和紧密连接的稳定性。例如,miR-122 可通过调节 RhoA 的表达,减少肝癌细胞的侵袭和扩散^[29]。总之,这些 miRNA 的调控活动说明了细胞可通过复杂的调控网络调控多种基因的表达,从而调节 EMT 的发生发展。

2.3 TGF- β 信号通路 与 EMT

TGF- β 家族蛋白包括三种 TGF- β 、两种激动剂和多种骨形成蛋白(BMP),其中 TGF- β 可通过 Smad 或非 Smad 信号通路激活 EMT 主要转录因子的表达,如 Snail、Twist 和 Zeb 等,诱导 EMT 的发生,进而促进了肿瘤细胞的侵袭与扩散^[30]。

2.3.1 TGF- β /Smad 信号通路 与 EMT

TGF- β 家族蛋白与其受体(T β R)结合后,可促使细胞内信号效应蛋白 Smad 的羧基端发生磷酸化,进而激活 Smad,激活的 Smad2 和 Smad3 与受体结合后再与 Smad4 结合,形成 Smad 三聚体复合物,进而发生核易位,并与靶基因的特定调控元件结合,发挥调控靶基因转录的作用^[31]。在 TGF- β 的作用下,Smad 复合物可激活 EMT 转录因子的表达,促进 EMT 的发生。例如,被 TGF- β 激活的 Smad3/4 复合物可激活 Snail1 和 Snail2 的表达,进而抑制 E-cadherin 的表达,同时,Smad3/4 复合物还可与 N-cadherin 的启动子结合,上调 N-cadherin 的表达,促进肿瘤细胞 EMT 的发生^[32]。

2.3.2 非 Smad 信号通路 与 EMT

TGF- β 也可通过其他非 Smad 信号通路,诱导肿瘤细胞 EMT 的发生,如 PI3K、MAPK、JNK 和 Rho 样 GTP 酶等信号通路^[33]。

在发生 EMT 的上皮细胞中,TGF- β 可通过 PI3K 信号通路激活 Akt,进而激活哺乳动物 TOR 复合体(mTORC)1 和 2,mTORC1 有助于增加细胞大小、促进蛋白质合成以及增加细胞的运动和侵袭能力,而 mTORC2 是上皮细胞转化为间质表型过程中所必需的^[34]。Akt 信号还可使 GSK3 β 发生磷酸化而失活,稳定了 Snail1 对上皮表型基因的抑制作用,促进了 EMT 的发生。通过对 Akt 信号的抑制可降低 Snail1 的表达水平,进而减弱了对 E-cadherin 表达的抑制作用和对 MMP9 表达的激活作用,并抑制了 mTORC2,从而减弱了细胞的侵袭和转移能力。

衔接蛋白 Src 同源 2 区封闭转化 A (SHCA)可与 T β R I 受体结合并被磷酸化,从而可为生长因子受体结合蛋白 2(Grb2)和交换因子(SOS)提供锚定点,并启动 RAS-RAF-MEK-MAPK/ERK 信号通路。TGF- β 可通过 SHCA 激活 MAPK/ERK 信号通路,增加了对 E-cadherin 表达的抑制作用和对 N-cadherin 与 MMP 表达的活化作用,从而促进 EMT 的发生。

TGF- β 也可诱导 MAPK/ERK5 信号通路的活化,稳定了被 GSK3 β 抑制的 Snail1,增加了 Snail1 的活性,从而促进 EMT 的发生。

2.4 受体酪氨酸激酶(RTK)与 EMT

RTK 与生长因子结合后,可诱导自身的酪氨酸发生磷酸化,使其能够激活 PI3K-Akt、MAPK/ERK、p38 MAPK、JNK 和 SRC 信号通路,进而诱导 EMT 的发生。

2.4.1 PI3K-Akt 和 MAPK/ERK 信号通路与 EMT

RTK 对 EMT 的诱导作用与 PI3K-Akt 和 MAPK/ERK 信号通路对分化、转化过程的调控作用相关有关,与 TGF- β 诱导 EMT 过程一样,Akt 和 mTORC2 信号在 RTK 诱导 EMT 的过程中是必需的^[34]。MAPK/ERK 信号通路不仅可被生长因子激活,在肿瘤细胞中还可被 RAS 或 RAF 基因突变所激活,从而促进 EMT 的发生。同时,RAS 和 RAF 信号也可激活 Snail1 和/或 Snail2 的表达,激活 Rho-GTP 酶,从而在 EMT 过程中促进肿瘤细胞的迁移和侵袭。此外,MAPK/ERK 信号通路还可激活核糖体蛋白 S6 激酶,诱导转录因子 FOS 相关抗原 1(FRA1)的表达,从而增加肿瘤细胞的侵袭能力。

2.4.2 表皮生长因子(EGF)与 EMT

EGF 可诱导 E-cadherin 的内吞作用,以及 Snail1 或 Twist 的表达,降低 E-cadherin 在细胞膜上的表达水平,促进 EMT 的发生。在乳腺上皮细胞中,人 EGF 受体 2(Her-2)的活化可诱导肿瘤细胞发生 EMT,进而促进乳腺癌细胞的侵袭和转移。EGF 相关的畸胎瘤衍化生长因子 1(Cripto1)也能促进 EMT 的发生,例如,在培养的乳腺上皮细胞中加入 Cripto1 或过表达 Cripto1,可引起细胞形态的改变,降低 E-cadherin 的表达水平,增加 N-cadherin、Vimentin 和 Snail 的表达水平,促进 EMT 的发生;同时,上调 Cripto1 的表达也可增加肿瘤细胞的迁移和侵袭能力,促进肿瘤的进展^[35]。此外,Cripto1 在 EMT 过程中的作用不是充当配体,而是充当 Nodal 的共受体,并可影响 Wnt 信号通路。

2.4.3 血小板衍生生长因子(PDGF)与 EMT

在结肠癌细胞中,PDGF 可诱导黏着连接的分解,促进 β -catenin 的核定位,抑制 E-cadherin 的表达,从而诱导 EMT 的发生。PDGF 相关的生长因子血管内皮生长因子(VEGF)作为血管生成的诱导者,

也可诱导 EMT 的发生。例如,在乳腺癌细胞中,VEGF 可通过抑制 GSK3 β 的活性,进而诱导 Snail1 的表达;在胰腺癌细胞中,VEGF 可通过诱导 Snail1、Snail2 和 Twist 的表达,进而诱导 EMT 的发生。此外,Snail1 也可上调 VEGF 的表达,形成正反馈调节,促进 EMT 的发生。VEGF 可与 EMT 共同作用于血管生成,促进肿瘤的侵袭和进展。

2.4.4 胰岛素样生长因子 1(IGF1)与 EMT

IGF1 能诱导 EMT 的发生。例如,在乳腺上皮细胞中,IGF1 受体被激活后可引起 E-cadherin 的表达缺失,N-cadherin、Vimentin 和纤连蛋白的表达增加,而且 IGF1 还可通过 NF- κ B 促进 Snail1 的表达,从而导致 EMT 的发生。而在其他细胞中,IGF1 可激活 PI3K-Akt 和 MAPK/ERK 信号通路,促进 Zeb1 的表达,从而诱导 EMT 的发生。此外,IGF1 还可破坏 IGF1 受体与 E-cadherin 和整合素 α V 形成的复合物,促进细胞迁移,诱导 EMT 的发生。

2.4.5 肝细胞生长因子(HGF)和纤维母细胞生长因子(FGF)与 EMT

HGF 可通过激活 MAPK/ERK 信号通路,促进转录因子早期生长反应 1(EGR1)与 Snail 基因的启动子结合,诱导 Snail1 或 Snail2 的表达,促进 EMT 的发生。HGF 还可干扰细胞桥粒的稳定性,抑制编码桥粒斑蛋白基因的表达。FGF 可诱导上皮细胞表达间质表型,如在膀胱癌细胞中,FGF1 可上调 Snail2、MMP13 和整合素 α 2 β 1 的表达,干扰细胞桥粒的稳定性,诱导 EMT 的发生。

2.5 其他细胞外信号与 EMT

在经典的 Wnt 信号通路中,Wnt 配体与其受体结合后可抑制 GSK3 β 的表达,进而抑制 β -catenin 的磷酸化、泛素化和降解,从而使 β -catenin 发挥调控靶基因表达的作用^[36];同时,抑制 GSK3 β 的活性还可增加 Snail1 的稳定性,从而促进 EMT 的发生。Wnt 信号通路也可促进与肿瘤进展相关的 EMT 的发生,例如,在结直肠癌转移相关的 EMT 事件中,受 β -catenin 调控的基因也可被上调。

在 Hedgehog(Hh)信号通路中,Patched 受体与其配体 Hh 结合后,可引起 Gli 转录因子入核,进而激活靶基因的转录,促进 EMT 的发生^[37]。例如,异位过表达 Gli 后,可通过上调 Snail 的表达、下调 E-cadherin 的表达,并可激活 PI3K-Akt 信号通路,诱导

EMT 的发生,进而促进多种肿瘤细胞的侵袭和转移^[38,39]。此外,Notch 信号通路也可参与 EMT 过程,Notch 的胞内结构域可直接激活 Snail2 的表达,诱导 EMT 的发生,促进肿瘤进展;而抑制 Notch1 可在体内外逆转乳腺癌细胞的 EMT 过程,进而减弱了其迁移和侵袭能力^[40]。

肿瘤微环境中的其他因子也可促进 EMT 的发生,例如,肿瘤组织中的低氧环境可诱导转录因子 HIF1 α 的表达,进而激活 Twist 的表达,诱导 EMT 的发生,增加肿瘤细胞的侵袭性。在肝癌细胞中,HIF1 α 也可诱导 Snail1 的表达,促进 EMT 的发生^[41]。免疫细胞、内皮细胞和肿瘤相关的成纤维细胞可释放炎症因子,促进 EMT 的发生。例如,在培养的乳腺癌细胞中,IL-6 可通过降低 E-cadherin 的表达、增加 N-cadherin、Vimentin、Snail1 和 Twist 的表达,增加细胞的侵袭性,促进 EMT 的发生;而且异位表达的 Twist 又可诱导 IL-6 的表达,并激活转录因子 STAT3,进而激活 Snail1 的表达^[42]。此外,在肿瘤细胞中,转录因子 Brachyury 可通过增加 IL-8 的分泌,促进 EMT 的发生,而且 IL-8 可维持 Brachyury 诱导的间质表型^[43]。尽管,某些炎症因子可诱导 NF- κ B 信号通路,直接激活 Twist1、Snail2 或 Zeb 的表达^[44],但是炎症因子促进 EMT 发生的具体机制仍不明确。

2.6 多条分子信号通路之间的相互作用与 EMT

许多分子信号通路在 EMT 的发生、发展以及基因表达和细胞形态的改变过程中均发挥重要作用,EMT 相关的细胞外信号常可激活多条分子信号通路,并且这些不同的分子信号通路又可激活 EMT 相关转录因子的表达,这表明 EMT 过程涉及到多条分子信号通路的相互作用。

体内外研究均观察到 EMT 相关分子信号通路的相互作用,例如,在肿瘤细胞发生 EMT 过程中,EGF 相关的 TGF α 或 FGF 可促进 TGF- β 信号通路和 RTK 信号通路之间的协同作用,而且 TGF- β 也可促进 EGF 或 FGF 诱导的 EMT 过程^[45]。在 EMT 过程中,Wnt 信号通路和 TGF- β 信号通路之间的相互作用可调控基因表达的改变,TGF- β 可破坏黏着连接的形成,使 β -catenin 在细胞核中积聚,从而进入经典的 Wnt 信号通路。

此外,GSK3 β 可通过参与多条分子信号通路,调控 EMT 的发生,但其能被 Wnt 信号通路所抑制。

GSK3 β 能介导 Snail1 发生磷酸化,使 Snail1 在细胞质中积聚并被降解,而 Akt 又可使 GSK3 β 发生磷酸化,促进 GSK3 β 发生泛素化而被降解,因而稳定了 Snail1,增强了对 E-cadherin 表达的抑制作用^[46,47]。此外,GSK3 β 介导的磷酸化作用也可降低由 TGF- β 和 BMP 所激活的 Smad 的稳定性,进而减弱了 Smad 的作用,抑制肿瘤细胞 EMT 的发生。

3 结 语

EMT 是一种连续改变和转换的过程,在其发生、发展过程中涉及到多条分子信号通路的相互作用,尽管目前对 EMT 发生机制的研究较多,但如何将 EMT 发生、发展的程度进行量化,以指导临床对癌症患者进行早期诊断和干预,仍需进行大量的研究去深入探索。此外,由于 EMT 具有短暂性和可逆性,其在体内的作用特点很难被阐述清楚,故亟需研发新的实验技术,使我们更加深入地研究 EMT 在复杂的机体环境中发生、发展的过程。

参考文献:

- [1] Inoue T,Umezawa A,Takenaka T,et al. The contribution of epithelial-mesenchymal transition to renal fibrosis differs among kidney disease models[J]. *Kidney Int*,2015,87(1):233-238.
- [2] Lim SH,Becker TM,Chua W,et al. Circulating tumour cells and the epithelial mesenchymal transition in colorectal cancer[J]. *J Clin Pathol*,2014,67(10):848-853.
- [3] Dong C,Wu Y,Wang Y,et al. Interaction with Suv39H1 is critical for Snail-mediated E-cadherin repression in breast cancer[J]. *Oncogene*,2013,32(11):1351-1362.
- [4] Li Y,Zhao Z,Xu C,et al. HMGA2 induces transcription factor slug expression to promote epithelial-to-mesenchymal transition and contributes to colon cancer progression [J]. *Cancer Lett*,2014,355(1):130-140.
- [5] De Craene B,Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression [J]. *Nat Rev Cancer*,2013,13(2):97-110.
- [6] Way TD,Huang JT,Chou CH,et al. Emodin represses TWIST1-induced epithelial-mesenchymal transitions in head and neck squamous cell carcinoma cells by inhibiting the β -catenin and Akt pathways[J]. *Eur J Cancer*,2014,50(2):366-378.

- [7] Wang T, Li Y, Wang W, et al. Twist2, the key Twist isoform related to prognosis, promotes invasion of cervical cancer by inducing epithelial-mesenchymal transition and blocking senescence[J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(9):1839–1846.
- [8] Teng Y, Li X. The roles of HLH transcription factors in epithelial mesenchymal transition and multiple molecular mechanisms[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2014, 31(3):367–377.
- [9] Diaz-Lopez A, Diaz-Martin J, Moreno-Bueno G, et al. Zeb1 and Snail1 engage miR-200f transcriptional and epigenetic regulation during EMT[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(4):E62–E73.
- [10] Yang X, Li L, Huang Q, et al. Wnt signaling through Snail1 and Zeb1 regulates bone metastasis in lung cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(2):748–755.
- [11] Liu L, Chen X, Wang Y, et al. Notch3 is important for TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer bone metastasis by regulating ZEB-1[J]. *Cancer Gene Ther*, 2014, 21(9):364–372.
- [12] Elsum IA, Martin C, Humbert PO. Scribble regulates an EMT-polarity pathway through modulation of MAPK-ERK signaling to mediate junction formation[J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 17):3990–3999.
- [13] Diaz-López A, Moreno-Bueno G, Cano A. Role of microRNA in epithelial to mesenchymal transition and metastasis and clinical perspectives [J]. *Cancer Manag Res*, 2014, 6: 205–216.
- [14] Eijkelenboom A, Burgering BM. FOXOs: signalling integrators for homeostasis maintenance [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(2):83–97.
- [15] Guo W, Keckesova Z, Donaher JL, et al. Slug and Sox9 cooperatively determine the mammary stem cell state[J]. *Cell*, 2012, 148(5):1015–1028.
- [16] Huang W, Chen Z, Shang X, et al. Sox12, a direct target of FoxQ1, promotes hepatocellular carcinoma metastasis through up-regulating Twist1 and FGFBP1[J]. *Hepatology*, 2015, 61(6):1920–1933.
- [17] Xu Y, Gao XD, Lee JH, et al. Cell type-restricted activity of hnRNP promotes breast cancer metastasis via regulating alternative splicing[J]. *Genes Dev*, 2014, 28(11):1191–1203.
- [18] Ishii H, Saitoh M, Sakamoto K, et al. Epithelial splicing regulatory proteins 1 (ESRP1) and 2 (ESRP2) suppress cancer cell motility via different mechanisms[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(40):27386–27399.
- [19] Braeutigam C, Rago L, Rolke A, et al. The RNA-binding protein Rbfox2: an essential regulator of EMT-driven alternative splicing and a mediator of cellular invasion [J]. *Oncogene*, 2014, 33(9):1082–1092.
- [20] Subramanian M, Rao SR, Thacker P, et al. MiR-29b downregulates canonical Wnt signaling by suppressing coactivators of β -catenin in human colorectal cancer cells [J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115(11):1974–1984.
- [21] Liu K, Guo L, Guo Y, et al. AEG-1 3'-untranslated region functions as a ceRNA in inducing epithelial-mesenchymal transition of human non-small cell lung cancer by regulating miR-30a activity[J]. *Eur J Cell Biol*, 2015, 94(1): 22–31.
- [22] Liu YN, Yin JJ, Abou-Kheir W, et al. MiR-1 and miR-200 inhibit EMT via Slug-dependent and tumorigenesis via Slug-independent mechanisms[J]. *Oncogene*, 2013, 32(3): 296–306.
- [23] Hahn S, Jackstadt R, Siemens H, et al. SNAIL and miR-34a feed-forward regulation of ZNF281/ZBP99 promotes epithelial-mesenchymal transition [J]. *EMBO J*, 2013, 32 (23):3079–3095.
- [24] Moes M, Le Becqec A, Crespo I, et al. A novel network integrating a miRNA-203/SNAI1 feedback loop which regulates epithelial to mesenchymal transition [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e35440.
- [25] Kim T, Veronese A, Pichiorri F, et al. p53 regulates epithelial-mesenchymal transition through microRNAs targeting ZEB1 and ZEB2[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(5):875–883.
- [26] Song Y, Li J, Zhu Y, et al. MicroRNA-9 promotes tumor metastasis via repressing E-cadherin in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(22):11669–11680.
- [27] Li Z, Ying X, Chen H, et al. MicroRNA-194 inhibits the epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells by targeting FoxM1[J]. *Dig Dis Sci*, 2014, 59(9):2145–2152.
- [28] Chen X, Wang Y, Zang W, et al. miR-194 targets RBX1 gene to modulate proliferation and migration of gastric cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(4):2393–2401.
- [29] Wang SC, Lin XL, Li J, et al. MicroRNA-122 triggers mesenchymal-epithelial transition and suppresses hepatocellular carcinoma cell motility and invasion by targeting RhoA [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):e101330.
- [30] Ha B, Lee EB, Cui J, et al. YB-1 overexpression promotes a TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition via Akt activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 458(2):347–351.
- [31] Ali A, Zhang P, Liangfang Y, et al. KLF17 empowers TGF- β /Smad signaling by targeting Smad3-dependent pathway to suppress tumor growth and metastasis during cancer progression[J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6:e1681.

- [32] Yang H, Wang L, Zhao J, et al. TGF- β -activated SMAD3/4 complex transcriptionally upregulates N-cadherin expression in non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2015, 87(3):249–257.
- [33] Zu X, Zhong J, Tan J, et al. TGF- β 1 induces HMGA1 expression in human breast cancer cells; implications of the involvement of HMGA1 in TGF- β signaling[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(3):693–701.
- [34] Lamouille S, Connolly E, Smyth JW, et al. TGF- β -induced activation of mTOR complex 2 drives epithelial-mesenchymal transition and cell invasion [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(5): 1259–1273.
- [35] Klauzinska M, Castro NP, Rangel MC, et al. The multifaceted role of the embryonic gene *Cripto-1* in cancer, stem cells and epithelial-mesenchymal transition[J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 29:51–58.
- [36] Niehrs C. The complex world of WNT receptor signaling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(12):767–779.
- [37] Yue D, Li H, Che J, et al. Hedgehog/Gli promotes epithelial-mesenchymal transition in lung squamous cell carcinomas[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2014, 33:34.
- [38] Lei J, Fan L, Wei G, et al. Gli-1 is crucial for hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition and invasion of breast cancer[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(4):3119–3126.
- [39] Ke Z, Caiping S, Qing Z, et al. Sonic hedgehog-Gli1 signals promote epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer by mediating PI3K/AKT pathway [J]. *Med Oncol*, 2015, 32(1):368.
- [40] Shao S, Zhao X, Zhang X, et al. Notch1 signaling regulates the epithelial-mesenchymal transition and invasion of breast cancer in a Slug-dependent manner[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14(1):28.
- [41] Zhang L, Huang G, Li X, et al. Hypoxia induces epithelial-mesenchymal transition via activation of SNAI1 by hypoxia-inducible factor-1 α in hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2013, 13:108.
- [42] Yadav A, Kumar B, Datta J, et al. IL-6 promotes head and neck tumor metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition via the JAK-STAT3-SNAIL signaling pathway[J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(12):1658–1667.
- [43] Haro A, Yano T, Kohno M, et al. Expression of brachyury gene is a significant prognostic factor for primary lung carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2013, 20(Suppl 3):S509–S516.
- [44] Wamsley JJ, Kumar M, Allison DF, et al. Activin upregulation by NF- κ B is required to maintain mesenchymal features of cancer stem-like cells in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(2):426–435.
- [45] Shirakihara T, Horiguchi K, Miyazawa K, et al. TGF- β regulates isoform switching of FGF receptors and epithelial-mesenchymal transition[J]. *EMBO J*, 2011, 30(4):783–795.
- [46] Liu ZC, Chen XH, Song HX, et al. Snail regulated by PKC/GSK-3 β pathway is crucial for EGF-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) of cancer cells[J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 358(2):491–502.
- [47] Liu ZC, Wang HS, Zhang G, et al. AKT/GSK-3 β regulates stability and transcription of snail which is crucial for bFGF-induced epithelial-mesenchymal transition of prostate cancer cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(10):3096–3105.