

影响肿瘤干细胞侵袭转移的相关机制

王耀焄, 张培彤

(中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

摘要: 目前研究认为肿瘤的复发转移与肿瘤干细胞有密切关系。对肿瘤干细胞与肿瘤侵袭转移相互关系的深入研究有助于提高肿瘤治疗疗效。然而, 影响肿瘤干细胞发生侵袭转移的具体机制并不十分明确, 其相关机制的研究主要集中在 EMT 的发生、肿瘤微环境的影响等。另外, 中医药对肿瘤干细胞的治疗因其“多靶点、多途径”存在独特优势。

关键词: 肿瘤干细胞; 侵袭转移; 机制

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2016)09-0699-07

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2016.09.A008

Mechanisms Related to Invasion and Metastasis of Tumor Stem Cells

WANG Yao-han, ZHANG Pei-tong

(Guang'anmen Hospital, Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 10053, China)

Abstract: Tumor recurrence and metastasis are known to be closely related to tumor stem cells. Understanding the relationship between tumor stem cells and tumor invasion are helpful may improve the therapeutic effect of tumor. However, the mechanism of the invasion and metastasis of cancer stem cells are still not clear. Current studies have shown that the related mechanisms mainly focus on the epithelial-mesenchymal transition (EMT), tumor microenvironment, and so on. In addition, the treatment of cancer stem cells by traditional Chinese medicine has its unique advantages.

Key words: cancer stem cells; invasion and metastasis; mechanisms

在几十年的肿瘤研究中, 有关“肿瘤的发生”、“肿瘤的复发”及“肿瘤抗药性的产生”等问题一直困扰着我们, 而近年来提出的肿瘤干细胞理论可能可使以上问题得到合理解释。肿瘤干细胞理论认为: 在肿瘤组织中存在一些极少数的肿瘤细胞, 其具有干细胞样性能, 如自我更新、多向分化、耐药性等。组织中极少数的肿瘤干细胞可以逃避放化疗的杀伤, 进而导致肿瘤的复发、转移。然而, 影响肿瘤干细胞发生侵袭转移的具体机制并不十分明确。目前报道的有关肿瘤干细胞侵袭转移的相关机制主要集中在以下几点。

1 上皮间质转化(EMT)

上皮间质转化(EMT)是一个高度调节细胞分化的程序, 使其极化的上皮细胞转化为具有侵袭性、间质形态的细胞^[1]。在此过程中, 细胞失去上皮细胞特性、获得间质特征, 其表型转化使癌细胞具有侵袭、转移及抗凋亡的能力; 进而导致细胞产生耐药性, 逃脱免疫监控, 获得干细胞性能^[2-4]。目前越来越多的证据表明, 肿瘤细胞可以通过诱导 EMT 获得干细胞性能。因此, EMT 成为影响肿瘤干细胞侵袭转移的机制之一。

Oct-4、Nanog 是干细胞的标志物之一。研究发现, Oct-4、Nanog 的表达可促进肿瘤细胞的 EMT; 抑制 Oct-4、Nanog 的表达可引起 N-钙粘附蛋白(N-

收稿日期: 2015-07-30; 修回日期: 2016-04-27

基金项目: 国家自然科学基金(81173450)

通讯作者: 张培彤, E-mail: zhangpeitong@sohu.com

cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、Slug、Snail 表达的明显降低,同时引起与干细胞转化相关的 E-钙粘附蛋白(E-cadherin)、CK-18 等表达的明显上升。与此相反,联合诱导 Oct-4、Nanog 的过表达可明显提高 N-cadherin、Vimentin、波形蛋白、Slug、Snail 等的表达,降低干细胞中 E-cadherin、CK-18 的表达。单独敲除 Oct-4 或 Nanog 并不能影响肿瘤干细胞转移能力;而单独或同时诱导 Oct-4、Nanog 的表达均可使肿瘤干细胞转移能力增强。研究认为 Oct-4、Nanog 在体外实验中可调节肿瘤干细胞(CSC)的侵袭能力。另外,临床试验亦表明 Oct-4、Nanog 的表达与瘤体大小、组织分级、病理类型、淋巴结转移及预后等关系密切^[5]。

FBXW7 作为一种对肿瘤细胞有抑制作用的泛素连接酶,可参与不同的细胞过程。临床上 FBXW7 表达的缺失与 TNM 分期等关系密切。而在体内外实验中,FBXW7 的沉默均可促进 EMT、干细胞样能力及转移。相反的,FBXW7 的过表达则可抑制上述过程。进一步研究发现,在体内外实验中,mTOR(哺乳动物雷帕霉素靶蛋白)抑制剂均可诱导 FBXW7 失表达,进而抑制肿瘤细胞的 EMT、转移及干细胞样能力。同时,与 EMT 相关的转录因子、Snail、Slug 等也明显表达下降。认为 FBXW7 可能通过 FBXW7/mTOR 信号通路调节 EMT,影响肿瘤干细胞性能及转移^[6]。

另外,某些细胞生长因子对 EMT 亦存在促进作用。TGF- β 是其中研究较多的细胞因子,可上调 N-cadherin、Vimentin、Slug 及 Snail 的表达,下调 E-cadherin、CK-18 表达,调控肿瘤干细胞经历 EMT。

TGF- β 介导的信号通路是有关 EMT 中第一个被发现且较为经典的信号通路。在 Smad 依赖通路中,与 TGF- β 结合的二聚体受体,可诱导 Smad2、Smad3 磷酸化,并与 Smad4 形成复合物,其由此产生的转录因子进入到细胞核,介导转录调控,使其获得间质细胞的性能,抑制上皮细胞特征的表达^[7],进而促进 EMT 的发生。在肿瘤环境中,这条经典的 TGF- β 信号通路与其余的诸如 ERK^[8]、P38MAP 激酶^[9]、Wnt/ β -catenin^[10]和 PI3 激酶^[11]等信号通路一起合作,完成间质转化。此外,在 TGF- β -Smad 信号通路中,Smad7 可抑制 TGF- β 对细胞 EMT 作用。Smad7 可以维持上皮细胞特性,抑制 Smad7 的表达

会导致 N-cadherin 表达上升,E-cadherin 表达下降,使细胞向间叶细胞转化。因此认为 Smad7 是维持肿瘤细胞处于上皮细胞状态的重要分子,可逆转 EMT 向间质上皮方向转化,使其侵袭转移能力下降^[12]。同样,miR-106b 也通过 TGF- β -Smad 信号通路调节 EMT 及干细胞功能的获得,不过其作用刚好与 Smad7 相反^[13]。

Wnt/ β -catenin 通路在 EMT 产生并维持 CSCs 干性中也发挥重要作用,Wnt 抑制剂 sFRP4 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路可促进上皮分化,使干细胞性能减弱并抑制 Twist 和 Slug 所致的 EMT,通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制了干细胞侵袭转移^[14]。

Notch 信号通路不仅参与调节细胞凋亡、干性维持及组织的分化,也参与肿瘤中 EMT 及 CSCs 的发生。Notch 通路在脑胚胎性肿瘤的 CSCs 中被激活, γ -分泌酶的抑制剂在抑制 Notch 信号通路后将导致肿瘤中 CSCs 缺失;在吉西他滨抵抗的胰腺癌细胞中,化疗抗性及 EMT 的发生也与 Notch 通路激活有关^[15]。

除了上述引起 EMT 比较经典的途径外,最近研究揭示了诱导 EMT 的机制中一种新的合作机制,即来源于肿瘤细胞本身的自分泌信号和肿瘤基质表面的旁分泌信号^[16]。肿瘤基质表面的旁分泌信号可以诱导 EMT 在肿瘤细胞中的表达,而旁分泌信号的表达则是通过自分泌信号来维持的。研究显示^[17],卵巢癌细胞分泌的 CCL5 可通过 NF- κ B 信号通路诱导非干样细胞发生 EMT,使其获得干细胞样性能,增强转移、侵袭能力。此外,自分泌信号除可增强肿瘤细胞的旁分泌功能外,其分泌环路还可使细胞永久的处于上皮细胞状态^[18]。

实际上,肿瘤细胞向上皮间质转化的程度目前仍不明确。目前,越来越多的可能证明,肿瘤细胞在向上皮间质转化的过程中,保留了部分上皮细胞标志物的同时又获得了间质细胞的功能,最终导致其“部分上皮间质转化”,而正因为其“部分上皮间质转化”使其拥有了肿瘤干细胞的性能^[19,20]。

2 MircoRNAs

MicroRNAs(miRNA)是指包含 20~24 个核苷酸的非编码 RNA,其可在转录后期通过结合 3'UTRs 或开放目的基因阅读框来抑制相关 miRNAs 转录达

到调控基因的目的。miRNAs 与肿瘤细胞生长、转移、侵袭及耐药等的发生关系密切^[21]。在肿瘤细胞中,miRNA 的表达不规则,有些 miRNA 可促进肿瘤细胞的致瘤性,有些可抑制其致瘤性,如 miR-223、miR-122、miR-26 可抑制肝癌细胞致瘤性,而 miR-130b、miR-221、miR-222 则与肝癌致瘤性增高密切相关^[22-24]。越来越多的证据表明 miRNAs 在血管生成、耐药发生及转移方面起着重要作用,而肿瘤干细胞也与肿瘤的发生、转移及耐药密切相关。因此,深入研究 miRNA 如何通过调控基因表达来影响肿瘤干细胞的功能有助于发现治疗新靶点。

miRNA 主要通过 Wnt、Sonic Hedgehog (SHH) 和 Notch 三条通路来调控肿瘤干细胞的功能^[25],且对肿瘤干细胞起着双重作用:一部分肿瘤细胞通过高表达某些 MicroRNA 不同程度地促进 CSCs 分化、自我更新;而某些 MicroRNA 的过表达则抑制了 CSCs 的功能。

MiR-155 是 MicroRNA 分子中与肿瘤联系比较密切的分子之一。研究表明在肝癌细胞中 MiR-155 不仅可以调控 EMT 的发生,还对肿瘤干细胞样细胞的转化存在一定影响。MiR-155 的高表达,可增加肿瘤细胞中干细胞样细胞数量及成球能力,同时可明显促进肿瘤细胞的转移侵袭及 EMT 的发生^[26]。

近期研究发现 MiR-125b 可以导致干细胞绕过正常细胞 G₁/S 的监测而直接进行分裂进而导致肿瘤干细胞对化疗的耐药,其机制可能与 miR-125b 通过调节细胞周期蛋白 CDK6、CDC25A 影响胶质瘤干细胞增殖有关^[27]。另外,MicroRNA 在胰腺癌肿瘤干细胞中也同样起着重要作用,如 miR-34 通过直接调节其下游分子 Bcl-2、Notch 分子来调控肿瘤干细胞的自我更新及分裂^[28]。

SP 细胞目前被认为是鉴别干细胞的标志之一。在以侧群细胞为筛选标准的干细胞样细胞中,与非侧群细胞比较,MiR-200a 使肿瘤细胞上皮标志物的表达上升,间质相关标志物表达下降。进一步研究发现 MiR-200a 的过表达可下调 N-cadherin、ZEB2、Vimentin 的表达,上调 E-cadherin 表达。认为 MiR-200a 在肝癌细胞中与干细胞样功能的获得及 EMT 的发生存在密切关系,其过表达可抑制肝癌细胞中干细胞样细胞的形成及其转移侵袭的能力^[29]。同为 MiR-200 家族中的另一成员 MiR-200c 同样可以通

过维持肿瘤细胞的上皮细胞状态、抑制细胞增殖、促进分化等抑制 EMT,进而起到影响 CSCs 的发生。另外,MiR-200c 的过表达还可增强肿瘤细胞对化疗的敏感性,抑制其侵袭转移能力^[30]。除 MiR-200a、MiR-200c 外,MiR-145^[31]、MiR-451^[32]、MiR-27^[33]等均可抑制肿瘤干细胞的功能。

3 微环境

1978 年,Schofield 提出了“微环境”假说,用来描述支持干细胞生长的生理性微环境。微环境包括间质细胞、细胞外基质及血管、炎症细胞,微环境的稳定是保持细胞正常增殖、分化、代谢和功能活动的重要条件,其成分的异常变化可使细胞发生病变。

低氧是肿瘤微环境中常见的异常因素,在缺氧环境下肿瘤干细胞的增殖、转移等功能得到促进。将人胃癌细胞系 BGC823、SGC7901 培养在不同的氧浓度中,检测其增殖、软琼脂形成、侵袭能力及 EMT、CSCs 标志物。经过低氧预处理的细胞其细胞形态变化明显,细胞增殖、侵袭转移及克隆形成能力增强。进一步研究发现,经过低氧处理的细胞,其 N-cadherin、Vimentin、Snail、Sox2、Oct4、Bmi1 在 RNA 及蛋白水平上均明显增高。由此推断低氧微环境可诱导产生 EMT,增强胃癌细胞的干细胞功能,促进其侵袭转移的发生^[34]。

缺氧诱导因子-1(HIF-1)作为低氧微环境中常见的细胞因子,其高表达可促进肿瘤干细胞增殖。大量数据表明在低氧环境中抑制 HIF-1 α 、TAZ 及 SIAH1 的表达可明显减少乳腺癌干细胞的富集^[35]。其作用机制主要与维持乳腺癌干细胞特性的转录激活剂 TAZ 的表达及活化有关:首先,HIF-1 直接抑制 WWTR1 基因表达并激活 TAZmRNA 的转录;其次,HIF-1 可激活 SIAH1 转录基因,SIAH1 转录基因编码的泛素连接酶在降解 LAST2 的泛素蛋白酶体系中必不可少,而 LAST2 的表达可抑制 TAZ 的活性。

除持续低氧环境可诱导 EMT 发生,影响干细胞性能外,间断性缺氧亦可促进干细胞性能及其侵袭转移能力。在间歇性缺氧的环境下,HIF-1 α 表达增强。同时高表达的 HIF-1 α 增强其自体吞噬能力,而 HIF-1 α 、自体吞噬的高表达促进了肿瘤干细胞的转移能力^[36]。

另外,微环境中存在的可溶性生长因子亦可促进肿瘤干细胞增殖、分化^[37]。将具有干细胞样性能的细胞与未分选的肿瘤细胞共培养,发现其细胞无限增殖、分化能力较单独培养的干细胞样细胞明显增高。进一步研究发现,其微环境中存在 VEGF、BDNF (brain-derived neurotrophic factor) 等生长因子,另外 TGF- β 、NT-3 (neurotrophin-3)、NGF (nerve growth factor) 的含量也明显增高,认为肿瘤微环境中的某些生长因子可能是肿瘤干细胞发生及增殖、转移的可能原因。

肿瘤相关炎症因子在肿瘤发展过程中起着重要作用,是肿瘤微环境重要特征之一。越来越多的研究表明,炎症与肿瘤干细胞微环境存在直接联系,如某些趋化因子、细胞因子等。例如 IL-8 通过 MAPK 信号通路来维持肿瘤干细胞性能^[38];IL-17 可通过 NF- κ B / MAPK 促进肿瘤干细胞的自我更新能力,促进肿瘤发展^[39];IL-6 通过 LIN28 的上调促进肿瘤的进展^[40]。另外,微环境中的 TAM(肿瘤相关性巨噬细胞)的数量与肿瘤干细胞的数量呈正相关,TAM 可以通过分泌 IL-6、TGF- β 1 等促进肿瘤细胞的上皮间质转化、肿瘤干细胞的发生^[41,42]。而抗炎药如阿司匹林可以减弱 CSCs 的抗凋亡能力、自我更新能力及对吉西他滨的耐药性来抑制肿瘤的生长及侵袭,延长生存期^[43]。另外,有研究认为术后引起的炎症对肿瘤干细胞的形成亦起到促进作用^[44]。

肿瘤细胞周围的肿瘤相关纤维细胞 (CAFs) 在肿瘤的发生、转移中起着重要作用,且与肿瘤干细胞相互作用促进肿瘤的生长。高表达 ALDH 的纤维细胞产生的纤维基质可促进肿瘤细胞的成球能力,其可增强纤维生长因子 4 (FGF4) 及干细胞相关基因 SOX2 和 POU5F1 的表达,认为高表达 ALDH 的纤维细胞通过 FGF4-FGFR2 信号通路来影响肿瘤干细胞的功能^[45]。

4 其他

除上述影响机制外,一些酶类及粘附分子对肿瘤干细胞侵袭、转移的影响逐渐被发现。

超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内重要的抗氧化酶。锰超氧化物歧化酶(SOD2)是超氧化物歧化酶中的一种,主要存在于线粒体内。在舌鳞癌中,SOD2

的高表达可以促进肿瘤细胞的转移、侵袭;敲除 SOD2 可减低肿瘤细胞的成球及克隆形成能力、降低干细胞标志物的表达。进一步研究发现,SOD2 通过 C-myc-SOD2 通路调节肿瘤干细胞的侵袭、转移^[46]。Zhao 等^[47]研究发现 1B50-1+肝细胞癌细胞较 1B50-1-细胞具有显著的分化、增殖、自我更新能力,同时表达多种干细胞标志物,如 OCT4,SOX2,NANOG,CD133+,EpCAM+,ALDH+等,且较单独表达其他干细胞标志物的细胞具有更明显的致瘤性。体内实验表明 1B50-1 抑制剂可以抑制瘤体生长,减少干细胞数量;进一步研究发现,其通过 MAPK 信号通路调节干细胞性能。

P-cadherin 作为典型的细胞粘附分子,可通过调节的 α 6 β 4 整合素二聚体促进基底细胞样乳腺癌细胞侵袭及诱导肿瘤干细胞的产生,P-cadherin 可以上调 α 6 整合素亚基的表达,进而影响 β 4 整合素亚基的表达。应用 P-cadherin 抑制剂可明显导致肿瘤细胞对底膜基质层粘连蛋白粘附能力的下降,同时使 α 6 β 4 整合素受体的表达明显下降。进一步研究发现 P-cadherin 可激活下游信号分子 FAK、Src、AKT 激酶。由此认为 P-cadherin 对 α 6 β 4 整合素及其下游 FAK/Src 激酶的活化可能是导致干细胞性能及转移能力增强的机制^[48]。

5 中医药对肿瘤干细胞的治疗作用

中医药治疗肿瘤干细胞的优势在于其“多靶点、多途径”发挥作用,把握时机,深入研究中医药多靶位效应对肿瘤干细胞的调控作用,控制肿瘤干细胞的增殖和分化,可以防止肿瘤的复发及转移。

Yan 等^[49]发现 Xiaotan Sanjie 方在体外实验中可通过下调 Notch-1、Hes1 的表达抑制胃癌干细胞的增殖能力。该研究显示,肿瘤干细胞在肿瘤血管新生中起着重要作用,Xiaotan Sanjie 方不仅可抑制肿瘤干细胞的增殖、抑制瘤体生长,同时可减少 VEGF 的分泌,减少微血管的形成,抑制肿瘤血管的新生,并呈剂量依赖性,为以后的临床治疗提供思路。

中药厚朴的提取物和厚朴酚可以诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤生长外^[50],还可通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路及 EMT 的发生抑制肿瘤干细胞的生长^[51]。Ponnuram 等^[52]研究发现,和厚朴酚联合

放疗可以抑制结肠癌细胞DCLK1及CD133的表达,抑制肿瘤细胞成球能力,其机制与厚朴酚抑制 γ -分泌酶的合成及Notch信号通路的表达有关。

中药郁金的提取物 β -榄香烯目前已被应用于各种实体瘤的治疗^[53],其可通过抑制Notch-1、Hes 1的表达抑制胃癌干细胞的生长,并呈剂量依赖性;另外, β -榄香烯还可通过抑制肿瘤干细胞的性能抑制肿瘤血管的新生^[54]。郁金的另一个提取物姜黄素同样可以通过影响Notch-1的表达达到抑制肿瘤干细胞生长的目的^[55-57]。另外,有研究表明雷公藤可通过下调Notch-1、Hes1的表达,调节胶质瘤干细胞凋亡及生长^[58,59]。

中医复方对肿瘤干细胞的杀伤作用也较为明显。范清莹^[60]应用中药益气解毒方作用于体外培养的鼻咽癌肿瘤干细胞,发现其对鼻咽癌CNE2干细胞的增殖有明显抑制作用,表现为G₀/G₁期阻滞,并能够促进肿瘤干细胞凋亡,并对鼻咽癌CNE2细胞肿瘤干细胞标志物CD44和ABCG2的表达活性也显示了较强的干预效应。李靖等^[61]应用四君子汤含药血清作用于体外分离培养的具有肿瘤干细胞特性的胃癌侧群细胞(SP细胞),发现其含药血清可以有效抑制胃癌SP细胞增殖、促进凋亡,促进促凋亡蛋白BAX表达,抑制抑凋亡蛋白Bcl-2表达。王爽等^[62]应用肺炎宁方作用于体外分离培养得到的肺腺癌A549肿瘤干细胞后发现其联合化疗药物能够诱导肺癌干细胞凋亡,同时指出凡具有益气养精功效的中药成分对肺癌干细胞Wnt信号通路影响的研究无论在理论还是实践上均是可行的。

肿瘤干细胞功能的调节是一个复杂的网络调节系统,影响其侵袭转移的机制复杂,并不仅限于上文所述,单一靶点的调控很难达到抑制肿瘤干细胞功能的目的。而中医中药的优势正是其作用方式的“多靶点、多途径”。既往临床及实验研究也证明中医中药在抑制肿瘤复发、转移及延长生存期方面存在长足优势。因此,深入研究中医药多靶位效应对肿瘤干细胞的调控作用、控制肿瘤干细胞的增殖和分化、开展中药或中药有效成分干预肿瘤干细胞的实验研究、进一步开发以肿瘤干细胞为靶点的抗癌新药将成为今后科研工作的重点之一。

6 小 结

近年来,以肿瘤干细胞为治疗靶点的实验研究

取得不错成绩,但其研究成果主要局限在体外实验部分,体内实验较少;其相关动物模型的建立目前尚未成形,化疗药及中医中药在体内实验中对肿瘤干细胞功能影响的探索性研究较少。目前虽已有研究证明中医中药在治疗肿瘤干细胞方面存在优势,但其研究着眼点主要集中在几个经典通路及相关机制上,如Wnt/ β -catenin、Notch-1、Hes 1、EMT等,而肿瘤干细胞与炎症微环境、肿瘤血管新生、肿瘤细胞旁分泌及自分泌的关系并不十分清楚,相互之间是否存在促进作用并不十分明确,二者的共存可否增强肿瘤的转移、侵袭目前尚属未知。因此,对以上问题深入研究有助于加深对肿瘤干细胞理论的认识,提高肿瘤治疗疗效。

参考文献:

- [1] Zhao Z, Lu P, Zhang H, et al. Nestin positively regulates the Wnt/ β -catenin pathway and the proliferation, survival, and invasiveness of breast cancer stem cells [J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(4):408.
- [2] Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, et al. Metastatic behavior of breast cancer subtypes [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(20):3271-3277.
- [3] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2):69-90.
- [4] Tran DD, Corsa CA, Biswas H, et al. Temporal and spatial cooperation of Snail1 and Twist1 during epithelial-mesenchymal transition predicts for human breast cancer recurrence [J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(12):1644-1657.
- [5] Wang D, Lu P, Zhang H, et al. Oct-4 and Nanog promote the epithelial-mesenchymal transition of breast cancer stem cells and are associated with poor prognosis in breast cancer patients [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(21):10803-10815.
- [6] Yang H, Lu X, Liu Z, et al. FBXW7 suppresses epithelial-mesenchymal transition, stemness and metastatic potential of cholangiocarcinoma cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8):6310-6325.
- [7] Zavadil J, Bottinger EP. TGF- β and epithelial-to-mesenchymal transitions [J]. *Oncogene*, 2005, 24(37):5764-5774.
- [8] Ellenrieder V. Transforming growth factor β 1 treatment leads to an epithelial-mesenchymal transdifferentiation of pancreatic cancer cells requiring extracellular signal-regulated kinase 2 activation [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(10):4222-4228.
- [9] Bakin AV, Rinehart C, Tomlinson AK, et al. P38 mitogen-activated protein kinase is required for TGF β -mediated fibroblastic transdifferentiation and cell migration [J]. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt15):3193-3206.

- [10] Masszi A. Integrity of cell-cell contacts is a critical regulator of TGF- β 1-induced epithelial-to-myofibroblast transition; role for β -catenin [J]. *Am J Pathol*, 2004, 165(6): 1955–1967.
- [11] Bakin AV, Tomlinson AK, Bhowmick NA, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase function is required for transforming growth factor β -mediated epithelial to mesenchymal transition and cell migration [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(47): 36803–36810.
- [12] Li Y, Gong W, Ma X, et al. Smad7 maintains epithelial phenotype of ovarian cancer stem-like cells and supports tumor colonization by mesenchymal-epithelial transition [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(1): 309–316.
- [13] Yu D, Shin HS, Lee YS, et al. miR-106b modulates cancer stem cell characteristics through TGF- β /Smad signaling in CD44-positive gastric cancer cells [J]. *Lab Invest*, 2014, 94(12): 1370–1381.
- [14] Warriar S, Bhuvanlakshmi G, Arfuso F, et al. Cancer stem-like cells from head and neck cancers are chemosensitized by the Wnt antagonist, sFRP4, by inducing apoptosis, decreasing stemness, drug resistance and epithelial to mesenchymal transition [J]. *Cancer Gene Ther*, 2014, 21(9): 381–388.
- [15] Wang Z, Li Y, Kong D, et al. Acquisition of epithelial-mesenchymal transition phenotype of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cell is linked with activation of the notch signaling pathway [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(6): 2400–2407.
- [16] Scheel C. Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast [J]. *Cell*, 2011, 145(6): 926–940.
- [17] Long H, Xiang T, Qi W, et al. CD133 + ovarian cancer stem-like cells promote non-stem cancer cell metastasis via CCL5 induced epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8): 5846–5859.
- [18] Pattabiraman DR, Weinberg RA. Tackling the cancer stem cells-what challenges do they pose [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(7): 497–512.
- [19] Celià-Terrassa T, Meca-Cortés O, Mateo F, et al. Epithelial-mesenchymal transition can suppress major attributes of human epithelial tumor-initiating cells [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(5): 1849–1868.
- [20] Battula VL. Epithelial-mesenchymal transition-derived cells exhibit multilineage differentiation potential similar to mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cells*, 2010, 28(8): 1435–1445.
- [21] Tu HF, Lin SC, Chang KW. MicroRNA aberrances in head and neck cancer: Pathogenetic and clinical significance [J]. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2013, 21(2): 104–111.
- [22] Pineau P, Volinia S, McJunkin K, et al. miR-221 overexpression contributes to liver tumorigenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(1): 264–269.
- [23] Ma S, Tang KH, Chan YP, et al. miR-130b Promotes CD133 (+) liver tumor-initiating cell growth and self-renewal via tumor protein 53-induced nuclear protein 1 [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(6): 694–707.
- [24] Wong QW, Ching AK, Chan AW, et al. miR-222 overexpression confers cell migratory advantages in hepatocellular carcinoma through enhancing AKT signaling [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(3): 867–875.
- [25] Garofalo M, Croce CM. Role of microRNAs in maintaining cancer stem cells [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, (81): 53–61.
- [26] Liu F, Kong X, Lv L, et al. TGF- β 1 acts through miR-155 to down-regulate TP53-INP1 in promoting epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes [J]. *Cancer Lett*, 2015, 359(2): 288–298.
- [27] Shi L, Zhang J, Pan T, et al. miR-125b is critical for the suppression of human U251 glioma stem cell proliferation [J]. *Brain Res*, 2010, 2(1312): 120–126.
- [28] Ji Q, Hao X, Zhang M, et al. MicroRNA miR-34 inhibits human pancreatic cancer tumor-initiating cells [J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6816.
- [29] Wang J, Yang X, Ruan B, et al. Overexpression of miR-200a suppresses epithelial-mesenchymal transition of liver cancer stem cells [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(4): 2447–2456.
- [30] Knezevic J, Pfefferle AD, Petrovic I. Expression of miR-200c in claudin-low breast cancer alters stem cell functionality, enhances chemosensitivity and reduces metastatic potential [J]. *Oncogene*, 2015, 34(49): 5997–6006.
- [31] Hu J, Qiu M, Jiang F, et al. miR-145 regulates cancer stem-like properties and epithelial-to-mesenchymal transition in lung adenocarcinoma-initiating cells [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(9): 8953–8961.
- [32] Bitarte N, Bandres E, Boni V, et al. Gonzalez-Huarriz, et al. MicroRNA-451 is involved in the self-renewal, tumorigenicity, and chemoresistance of colorectal cancer stem cells [J]. *Stem Cells*, 2011, 29(11): 1661–1671.
- [33] Miao Y, Li J, Qiu X, et al. miR-27a regulates the self-renewal of the H446 small cell lung cancer cell line in vitro [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(1): 161–168.
- [34] Guo J, Wang B, Fu Z, et al. Hypoxic Microenvironment Induces EMT and Upgrades Stem-Like Properties of Gastric Cancer Cells [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2016, 15(1): 60–68.
- [35] Xiang L, Gilkes DM, Hu H, et al. Hypoxia-inducible factor 1 mediates TAZ expression and nuclear localization to induce the breast cancer stem cell phenotype [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(24): 12509–12527.
- [36] Zhu H, Wang D, Zhang L, et al. Upregulation of autophagy by hypoxia-inducible factor-1 α promotes EMT and metastatic ability of CD133+ pancreatic cancer stem-like cells during intermittent hypoxia [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(3): 935–942.
- [37] Guo J, Niu R, Huang W, et al. Growth factors from tumor micro-environment possibly promote the proliferation of glioblastoma-derived stem-like cells in vitro [J]. *Pathol*

- Oncol Res, 2012, 18(4): 1047–1057.
- [38] Tang KH, Ma S, Lee TK, et al. CD133(+) liver tumor-initiating cells promote tumor angiogenesis, growth, and self-renewal through neurotensin/interleukin-8/CXCL1 signaling[J]. *Hepatology*, 2012, 55 (3): 807–820.
 - [39] Xiang T, Long H, He L, et al. Interleukin-17 produced by tumor microenvironment promotes self-renewal of CD133+ cancer stem-like cells in ovarian cancer [J]. *Oncogene*, 2015, 34(2): 165–176.
 - [40] Dhar HG, Nakagawa D, Burgada HF, et al. Identification of liver cancer pro-genitors whose malignant progression depends on autocrine IL-6 signaling [J]. *Cell*, 2013, 155(2): 384–396.
 - [41] Wan S, Zhao E, Kryczek I, et al. Tumor-associated macrophages produce interleukin 6 and signal via STAT3 to promote expansion of human hepatocellular carcinoma stem cells [J]. *Gastroenterology*, 2014, 147(6): 1393–1404.
 - [42] Fan QM, Jing YY, Yu GF, et al. Tumor-associated macrophages promote cancer stem cell-like properties via transforming growth factor-beta1-induced epithelial- mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2014, 352(2): 160–168.
 - [43] Zhang Y, Liu L, Fan P, et al. Aspirin counteracts cancer stem cell features, desmoplasia and gemcitabine resistance in pancreatic cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(12): 9999–10015.
 - [44] Segatto I, Berton S, Sonogo M, et al. Surgery-induced wound response promotes stem-like and tumor-initiating features of breast cancer cells via STAT3 signaling[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(15): 6267–6279.
 - [45] Yasuda K, Torigoe T, Mariya T, et al. Fibroblasts induce expression of FGF4 in ovarian cancer stem-like cells/cancer-initiating cells and upregulate their tumor initiation capacity[J]. *Lab Invest*, 2014, 94(12): 1355–1369.
 - [46] Liu Z, He Q, Ding X, et al. SOD2 is a C-myc target gene that promotes the migration and invasion of tongue squamous cell carcinoma involving cancer stem-like cells[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 9(60): 139–146.
 - [47] Zhao W, Wang L, Han H, et al. 1B50-1, a mAb raised against recurrent tumor cells, targets liver tumor-initiating cells by binding to the calcium channel $\alpha 2\delta 1$ subunit[J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(4): 541–556.
 - [48] Vieira AF, Ribeiro AS, Dionísio MR, et al. P-cadherin signals through the laminin receptor $\alpha 6\beta 4$ integrin to induce stem cell and invasive properties in basal-like breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(3): 679–692.
 - [49] Yan B, Liu L, Zhao Y, et al. Xiaotan Sanjie decoction attenuates tumor angiogenesis by manipulating Notch-1-regulated proliferation of gastric cancer stem-like cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(36): 13105–13118.
 - [50] Jiang QQ, Fan LY, Yang GL, et al. Improved therapeuticectiveness by combining liposomal honokiol with cisplatin in lung cancer model [J]. *BMC Cancer*, 2008, 16 (8): 242–250.
 - [51] Yao CJ, Lai GM, Yeh CT, et al. Honokiol eliminates human oral cancer stem-Like cells accompanied with suppression of Wnt/-Catenin signaling and apoptosis induction [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013 (10): 146136.
 - [52] Ponnuram S, Mammen JM, Ramalingam S, et al. Honokiol in combination with radiation targets notch signaling to inhibit colon cancer stem cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(4): 963–972.
 - [53] Zhan YH, Liu J, Qu XJ, et al. β -Elemene induces apoptosis in human renal-cell carcinoma 786-0 cells through inhibition of MAPK/ERK and PIK/Akt/mTOR signaling pathways [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 312(13): 2739–2744.
 - [54] Yan B, Zhou Y, Feng S, et al. β -elemene attenuated tumor angiogenesis by targeting notch-1 in gastric cancer stem-like cells[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013(24): 268468.
 - [55] Wang Z, Zhang Y, Li Y, et al. Down-regulation of Notch-1 contributes to cell growth inhibition and apoptosis in pancreatic cancer cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(3): 483–493.
 - [56] Lin L, Liu Y, Li H, et al. Targeting colon cancer stem cells using a new curcumin analogue, GO-Y030[J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(2): 212–220.
 - [57] Bao B, Ali S, Kong D, et al. Anti-tumor activity of a novel compound-CDF is mediated by regulating miR-21, miR-200, and pten in pancreatic cancer [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (3) : e17850.
 - [58] Zhen Y, Zhao S, Li Q, et al. Arsenic trioxide-mediated Notch pathway inhibition depletes the cancer stem-like cell population in gliomas [J]. *Cancer Lett*, 2010, 292 (1): 64–72.
 - [59] Sun H, Zhang S. Arsenic trioxide regulates the apoptosis of glioma cell and glioma stem cell via down-regulation of stem cell marker Sox [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 410(3): 692–697.
 - [60] Fan QY. Effects of Yiqi Jiedu Fang on the CNE2 cell cycle and cancer stem cell marker CD44, ABCG2 expression [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2013, 5. [范清莹. 益气解毒方对鼻咽癌 CNE2 细胞周期与肿瘤干细胞标志物 CD44, ABCG2 表达的影响 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2013.5.]
 - [61] Li J. Sijunzitang influence proliferation and apoptosis of gastric side population cell [D]. Bengbu: Bengbu Medicine Collage, 2013.5. [李靖. 四君子汤对胃癌侧群细胞增殖及凋亡的影响[D]. 蚌埠: 蚌埠医学院, 2013.5.]
 - [62] Wang S, Wang LF, Xu ZY, et al. Effect of Fei Yan Ning on lung cancer stem cells Wnt signaling pathway [J]. *Journal of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine*, 2012, 26(6): 77–82. [王爽, 王立芳, 徐振晔, 等. 肺炎宁方对肺癌干细胞 Wnt 信号通路的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2012, 26(6): 77–82.]