

上皮-间质转化与肿瘤侵袭转移关系的研究进展

吕文姣 综述, 周京旭 审校

(广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510407)

摘要: 上皮-间质转化(EMT)是指上皮细胞在特定的生理和病理情况下转化成有迁移能力的间质细胞的现象。近年来研究发现 EMT 与肿瘤的侵袭转移密切相关。生长因子、转录因子、microRNA 等都可以参与各种信号通路来诱导或调控细胞发生 EMT。本文就 EMT 现象及其与肿瘤侵袭转移的关系进行综述。

关键词: 上皮-间质转化; 肿瘤侵袭转移; TGF- β

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2014)06-0508-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.06.B016

Relationship of Epithelial-mesenchymal Transition with Tumor Invasion and Metastasis

LV Wen-jiao, ZHOU Jing-xu

(The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510407, China)

Abstract: Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is an important pathological and physiological transdifferentiation process by which a fully differentiated epithelial cell acquires mesenchymal traits. Recent years studies show that EMT plays a critical role in the process of metastasis, and the occurrence of EMT involves various of signaling pathways which related to growth factors, transcription factors, microRNA, etc. In this review, we present the recent researches regarding the phenomenon of EMT and the correlation of EMT with tumor invasion and metastasis.

Subject words: epithelial-mesenchymal transition; tumor invasion and metastasis; TGF- β

上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指在特定的生理和病理情况下发生上皮细胞向间质细胞转化的现象。EMT 的概念由 Greenburg 和 Hay 在研究胚胎发育时首次提出, 随后的研究发现, EMT 与上皮细胞来源的肿瘤侵袭转移密切相关。在此基础上, 以寻求抗肿瘤治疗新的有效靶点为目标, 近来 EMT 在肿瘤侵袭转移中的作用及调控机制的研究受到很大关注。

1 上皮-间质转化

在典型的上皮细胞层中, 上皮细胞之间通过紧

密连接、粘着连接、桥粒和缝隙连接与相邻细胞建立牢固的横向细胞-细胞连接, 并且在基底面上与基底膜联合, 从而建立对齐的上皮细胞顶-基底极性, 使得上皮细胞只能沿基底面横向移动, 确保其在上皮组织的位置固定并且防止它们进入下面的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)。而间叶细胞则缺乏紧密的细胞间连接, 它们可以作为单独的个体侵入 ECM^[1]。发生 EMT 后, 上皮细胞就获得了间叶细胞样的迁移运动能力。EMT 是大多数多细胞生物胚胎发育的基础过程, 也参与组织修复和纤维化的过程。近期研究证明, EMT 在肿瘤侵袭的早期阶段也扮演重要角色, 肿瘤细胞经历 EMT 后不但获得了侵袭转移的能力^[2], 而且还具有干细胞样抗凋亡和自我更新的性质。上皮细胞发生 EMT 需要经历细胞结构和细胞行为方面的复杂变化。大致上可以归纳为以下几方面的特征^[3]:

基金项目: 广东省科技计划项目(2012B031800207)

通讯作者: 周京旭, 副主任医师, 博士; 广州中医药大学第一附属医院三肿瘤科, 广东省广州市白云区机场路 16 号(510407); E-mail: ym912@163.com

收稿日期: 2013-10-12; **修回日期:** 2013-12-08

①形态学：立方上皮细胞向带伪足的纺锤形间叶细胞形态转变,细胞极性丧失。

②相关标志物：上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白(E-cadherin,E-cad)、角蛋白(ceratin)等的表达减少或缺失,间充质细胞标志物波形蛋白(vimentin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin,N-cad)等的获得。

③细胞行为：肌动蛋白压力纤维重组使细胞骨架重建,细胞间粘附减弱造成上皮细胞相互离散,基质金属蛋白酶和细胞外基质蛋白分泌增多使基底膜和细胞外基质被破坏,细胞获得运动迁移能力。

不是上述变化都能在所有 EMT 过程中出现,作为一个单独细胞移动和侵入 ECM 的能力获得,可以被看作上皮细胞发生 EMT 的功能特点^[1]。

2 上皮-间质转化与肿瘤侵袭转移

癌细胞失去细胞间黏附并获得运动能力是其侵袭邻近组织和发生转移的前提。癌细胞获得 EMT 表型后可以远离原发肿瘤,通过与基质细胞相互作用,侵入邻近组织和血管进入循环系统,存活的肿瘤细胞再随循环系统至转移目的地,并适应组织环境最终发展成分散在远端器官继发肿瘤^[4]。如前所述,粘附功能异常是 EMT 的重要特征也是癌细胞发生侵袭转移的关键步骤。正常细胞表面存在多种介导细胞之间、细胞与 ECM 之间粘附的分子,细胞通过黏附分子的胞外部分和 ECM 发生粘附、识别,通过黏附分子的胞内部分与骨架蛋白相连,从而将细胞外信号传入胞内,对细胞进行调控。钙连接素是上皮组织中的一类依赖 Ca^{2+} 的细胞间跨膜黏连糖蛋白分子,主要参与细胞间的连接,分为 E-cad、P-cad 和 N-cad 三种。与癌转移相关的主要是 E-cad。E-cad 能够通过 $\alpha/\beta/\gamma$ -连环素与细胞骨架相连促进同型细胞间的粘附,并维持细胞骨架和链接支架的稳定,使肿瘤细胞之间保持密切的接触,难以脱离原发肿瘤进入周围组织或血管,从而抑制肿瘤的侵袭转移。细胞间粘附功能的下降往往伴随着 E-cad 的表达降低或丢失,所以 E-cad 的下降或缺失可以作为癌细胞失去上皮特征的可靠证据。而 N-cad 是间质细胞骨架蛋白,主要功能是介导成纤维细胞动态粘附,有助于间质细胞的移动。波形蛋白也是细胞骨架蛋白之一,特异性地分布在间质细胞中,其表达异常增多会导

致细胞骨架蛋白变化,使上皮细胞有成纤维细胞特性,使细胞更易于移动。

3 调控 EMT 的相关分子

参与诱导或调控细胞发生 EMT 的因素众多,如生长因子、转录因子、microRNA 等。在 EMT 过程中,相关细胞也释放各种信号到微环境中,对微环境进行调整,并能与微环境中的各种因子和细胞发生相互作用^[1]。因此,EMT 发生机制复杂,目前尚未得到十分明确的阐述,现在普遍认为 EMT 的发生是多种因素与多条信号通路相互作用的结果。

3.1 生长因子

生长因子如 TGF- β (transforming growth factor- β)、HGF (hepatocyte growth factor)、EGF(epidermal growth factor)、IGF(insulin-like growth factor)、VEGF(vascular endothelial growth factor)和 FGF(fibroblast growth factor)等^[5]被认为与 EMT 的发生有较密切关系,这些生长因子既可以引起细胞的增殖,也可以与上皮细胞表面的相应受体结合,通过细胞内的 Ras、Src、Rho、PI3K、Wnt 等信号转导途径将信号转入细胞内,将信号转导至细胞内,活化核内相应转录因子,调节基因的表达,影响细胞黏附分子和细胞骨架功能,使细胞离散,进而诱导 EMT。

TGF- β 是目前研究较充分的生长因子,可由激活的巨噬细胞和包含肿瘤细胞在内的某些非免疫细胞产生^[6]。TGF- β 目前被看作支配细胞和组织发展、分化和稳态等多方面的一种多功能调节者^[7]。其对肿瘤的发生发展有双重效应^[8],在正常细胞中,TGF- β 能够抑制细胞生长,促进细胞分化或凋亡。但是在恶性转化过程中,细胞都不同程度地丧失了对 TGF- β 诱导的生长抑制的敏感性。通常情况下,癌细胞分泌的 TGF- β 比相应的正常细胞更多,并且 TGF- β 的分泌量与肿瘤的恶性分期高度相关。TGF- β 表达或激活的增加,或 TGF- β 受体水平的提高都可以导致肿瘤微环境中自分泌 TGF- β 信号的升高。进而确保癌细胞通过 TGF- β 信号存活和脱离原发肿瘤进行远处转移^[9]。

TGF- β 主要通过 Smad 和非 Smad 信号通路来诱导 EMT^[10]。Smad 蛋白家族是一类转录因子,能够将活化的受体复合物信号传递到核内。TGF- β 受体

有三种: $\text{T}\beta\text{R-I}$ 、 $\text{T}\beta\text{R-II}$ 、 $\text{T}\beta\text{R-III}$, 一旦 $\text{TGF-}\beta$ 与 $\text{T}\beta\text{R-II}$ 结合, $\text{T}\beta\text{R-II}$ 即磷酸化 $\text{T}\beta\text{R-I}$ 并激活 $\text{T}\beta\text{R-I}$ 的蛋白激酶活性, 活化的 $\text{T}\beta\text{R-I}$ 能够特异地识别和磷酸化 Smad 蛋白家族成员 Smad2 和 Smad3 (受体活化的 Smad, R-Smad) 在转移到核内的过程中, R-Smad 又与其伴侣分子 Smad4 结合, 形成有功能的转录复合体。该转录复合体进入核内后, 调节靶基因的表达。 $\text{T}\beta\text{R-III}$ 与细胞信号转导无关, 但能提高 $\text{TGF-}\beta$ 与 $\text{T}\beta\text{R-I}$ 、 $\text{T}\beta\text{R-II}$ 的亲和力。Smad 蛋白在基因调节序列上通过与高亲和力的 DNA 结合转录因子、辅激活物及辅抑制物相互作用来激活或抑制转录^[11]。除了 Smad 依赖通路之外, $\text{TGF-}\beta$ 也能以 $\text{T}\beta\text{R II/T}\beta\text{R I}$ 复合物为始来启动非 Smad 通路, 引起更常见的酪氨酸酶受体信号效应器的激活^[12], 如 PI3K/Akt、Erk、p38 MAPK 和 Rho-GTPases 通路。

除上述主要信号通路之外, 许多研究表明 $\text{TGF-}\beta$ 通路还可以与 Wnt、Notch 和受体酪氨酸激酶信号协作以满足 EMT 完成胚胎发育和各种器官形成的需要^[13]。

现阶段临床研究中抗 $\text{TGF-}\beta$ 疗法正在开发和测试, 然而该疗法带有巨大风险^[14], 因其促进肿瘤侵袭转移和肿瘤抑制功能同时存在, 临床上 $\text{TGF-}\beta$ 抑制因子的应用需要以对其信号、影响以及作用环境的更深入研究为前提。合理利用 $\text{TGF-}\beta$ 信号通路相关受体阻滞剂来抑制或逆转癌细胞 EMT 进程或许能影响肿瘤侵袭转移。

3.2 转录因子

上皮细胞的 E-cad 功能缺失被看作发生 EMT 的重要标志。多种转录因子均能与 E-cad 启动子区的 E-box 连接基序竞争性结合, 抑制其连接复合体的转录, 进而抑制 E-cad 的表达以使上皮细胞丢失其特征, 而获得间叶细胞的特征, 实现上皮细胞向间质细胞的转变。现阶段研究较充分的 EMT 转录因子家族主要有三种: 锌指转录因子 Slug、Snail 以及 ZEB 家族转录因子 ZEB1 和 ZEB2, 以及 Twist 家族^[15]。研究发现, 呈侵袭性的乳腺癌上皮细胞和内皮细胞中发现均有 Snail 的过表达, 而正常乳腺中则没有^[16]。除了与 E-box 序列竞争性结合, ZEB1、Slug 和 Snail 也可以直接抑制包含 Crumbs3 和 Lgl2 在内的某些细胞极性因子的转录^[17], 表明转录因子对于表达上皮细胞特性关键部件的抑制有重要作用。另外有研究表明核转录因子 NF- κB 可以通过上调 Snail/Slug、

Twist 或 ZEB1 的表达来诱导 EMT 发生^[18]。

转录因子同时也可以参与到其他信号通路与其相互影响共同诱导 EMT, 如 $\text{TGF-}\beta$ 信号通路可以直接激活转录因子 Slug 和 snail、ZEB1 和 ZEB2、Twist 对 EMT 的表达^[19]。Smad3/Smad4 复合物可以与 Snail 的调节启动序列直接结合来诱导其转录, 其后激活的 Smad3/Smad4 和 Snail 复合物可以结合至上皮细胞连接蛋白 E-cad 和闭合蛋白的基因编码区, 抑制其表达^[20]。Smad 信号也可以诱导 ZEB 转录因子的表达^[19]。某些微小 RNA (microRNA) 也能与转录因子相互作用对 EMT 进行调控^[23]。

3.3 microRNA

microRNA (miRNA) 是一类新发现的长度为 18 至 24 个核苷酸的非编码单链小分子 RNA, 可在转录后水平上调节基因表达, 与目标 mRNA 配对, 阻碍目的 mRNA 翻译或导致其发生降解^[21]。miRNA 在细胞增殖、分化、凋亡、基因调控及疾病的发生中发挥巨大的作用。最近研究发现多种 miRNA 表达的上调或下调是调控上皮细胞表型的基础, 在 EMT 和肿瘤转移的发生过程中起着重要的作用。如 miR-10b、miR-21、miR-373、miR-520c 在侵袭性乳腺癌中高表达, 与癌细胞侵袭转移呈正相关, 而 miR-126、miR-206、miR-335 以及 miR-200 家族恰恰相反, 可以抑制癌细胞转移^[22]。这些 miRNA 也可以通过负反馈抑制来控制其上游的调节器^[23], 如 $\text{TGF-}\beta$ 激活 ZEB 转录因子的表达来抑制 miRNA200 家族成员的表达, 而 miRNA200 又可以反向调节 ZEB 因子和 $\text{TGF-}\beta$, 从而建立一个负反馈环。类似的负反馈环也存在于 ZEB 因子和 miRNA-34 以及 Snail 和 miR-34 之间。参与调节 EMT 和肿瘤转移主要的 miRNA 可以被分类至四个由重要的肿瘤蛋白或肿瘤抑制者控制的调节中心^[24], 第一个中心包括 miRNA-200 家族、miRNA-205 以及 miRNA-34, 它们可以由 p53 直接调控或通过与 $\text{TGF-}\beta$ 相互作用作用来抑制 EMT 的发生。第二个中心包括 miR-10b 和 let-7i, 它们可以由 Twist1 调控诱导转移。第三个中心包括 let-7、miR-17-92 簇、miR-9、miR-155 以及 miR-29, 它们由 c-Myc 和/或 $\text{TGF-}\beta$ 来调控, 可以通过与细胞连接完整性、细胞粘附和/或迁移以及血管生成相关的不同分子之间的作用, 提高转移性。第四个中心主要是 miR-21, 它可以通过调控涉及转移过程的多种分子, 包括细胞周期和/或凋亡调节基因如 p53、CDC25A、

PTEN、*FasL* 以及转移相关基因如 *TPM1*、*TIMP3*、*RECK*、*maspin*、*MARCKS* 来诱导转移。这些 miRNA 在调控 EMT 和转移时有截然不同的抑制或促进作用,其相关作用的表达也可以被不同的信号通路所调控,使 EMT 相关基因表达程序更加错综复杂。近来发现有在体内沉默特异性 miRNA 的方法^[25],或许在未来能利用 EMT 相关 miRNA 为肿瘤治疗提供新希望。

4 研究展望

与发育过程中的 EMT 不同,肿瘤进展期紊乱的微环境包含了很多异常调节的信号过程,所以形成的 EMT 往往是不协调的、不完整的过程^[26]。目前大多数的研究都集中在探讨经历 EMT 的细胞之间信号通路的接收或激活。然而,EMT 相关的变化往往与其他细胞程序协调发生,如细胞的存活和增殖等,所以往往不能确定某一分子或者通路与 EMT 程序一一对应,还是同时作用于另外一种或几种程序。其相关分子及信号通路网络的作用机制有待于进一步研究,胚胎发育期的 EMT 分子信号通路可以为肿瘤进展中 EMT 的研究提供一定的线索和思路。另外也有研究表明,EMT 的诱导能够产生干细胞样细胞,其具有强大的增殖分化能力,能够使肿瘤产生耐药性并在治疗后得以复发^[27]。

综上所述,EMT 与肿瘤侵袭转移有着密切联系,设想通过药物对 EMT 进行阻断和逆转可能预防和终止肿瘤的侵袭转移。因此,明确诱导 EMT 的相关因素和发现这些因素在肿瘤进展中的作用机制,研究开发新的治疗方法来防治肿瘤侵袭转移,可能使肿瘤“局灶化”,达到肿瘤患者长期“带瘤生存”目的,为改善肿瘤患者预后提供有效途径。

参考文献:

- [1] Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis[J]. *Dev Cell*, 2008, 14(6):818–829.
- [2] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6):1420–1428.
- [3] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transition in development and disease[J]. *Cell*, 2009, 139(5):871–890.
- [4] Fu J, Qin L, He T, et al. The TWIST/Mi2/NuRD protein complex and its essential role in cancer metastasis[J]. *Cell Res*, 2011, 21(2):275–289.
- [5] Shirakihara T, Horiguchi K, Miyazawa K, et al. TGF- β regu-

- lates isoform switching of FGF receptors and epithelial-mesenchymal transition[J]. *EMBO J*, 2011, 30(4):783–795.
- [6] Sanjabi S, Zenewicz LA, Kamanaka M, et al. Anti-inflammatory and pro-inflammatory roles of TGF- β , IL-10, and IL-22 in immunity and autoimmunity[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2009, 9(4):447–453.
- [7] Delisle JS, Giroux M, Boucher G, et al. The TGF- β -Smad3 pathway inhibits CD28-dependent cell growth and proliferation of CD4 T cells[J]. *Genes Immun*, 2013, 14(2):115–126.
- [8] Massagué J. TGF- β in cancer[J]. *Cell*, 2008, 134(2):215–230.
- [9] Ikushima H, Miyazono K. TGF β signalling: a complex web in cancer progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(6):415–424.
- [10] Xu J, Lamouille S, Derynck R. TGF- β -induced epithelial to mesenchymal transition[J]. *Cell Res*, 2009, 19(2):156–172.
- [11] Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF- β signaling from cell membrane to the nucleus[J]. *Cell*, 2003, 113(6):685–700.
- [12] Moustakas A, Heldin CH. Non-Smad TGF- β signals [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 16):3573–3584.
- [13] Grünert S, Jechlinger M, Beug H. Diverse cellular and molecular mechanisms contribute to epithelial plasticity and metastasis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(8):657–665.
- [14] Padua D, Massagué J. Roles of TGF- β in metastasis [J]. *Cell Res*, 2009, 19(1):89–102.
- [15] Peinado H, Olmeda D, Cano A. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype? [J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(6):415–428.
- [16] Parker BS, Argani P, Cook BP, et al. Alterations in vascular gene expression in invasive breast carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(21):7857–7866.
- [17] Spaderna S, Schmalhofer O, Wahlbuhl M, et al. The transcriptional repressor ZEB1 promotes metastasis and loss of cell polarity in cancer[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(2):537–544.
- [18] Zhang C, Carl TF, Trudeau ED, et al. An NF- κ B and slug regulatory loop active in early vertebrate mesoderm [J]. *PLoS One*, 2006, 1:e106.
- [19] Moustakas A, Heldin CH. Induction of epithelial-mesenchymal transition by transforming growth factor beta[J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(5–6):446–454.
- [20] Vincent T, Neve EP, Johnson JR, et al. A SNAIL1-SMAD3/4 transcriptional repressor complex promotes TGF- β mediated epithelial-mesenchymal transition [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(8):943–950.
- [21] Zhang H, Li Y, Lai M. The microRNA network and tumor metastasis[J]. *Oncogene*, 2010, 29(6):937–948.
- [22] Ocaña OH, Nieto MA. A new regulatory loop in cancer-cell invasion[J]. *EMBO Rep*, 2008, 9(1):521–522.
- [23] Gregory PA, Bracken CP, Smith E. An autocrine TGF- β /ZEB/miR-200 signaling network regulates establishment and maintenance of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(10):1686–1698.
- [24] Wu CY, Tsai YP, Wu MZ, et al. Epigenetic reprogramming and post-transcriptional regulation during the epithelial-mesenchymal transition[J]. *Trends Genet*, 2012, 28(9):454–463.
- [25] Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, et al. Silencing of microRNAs in vivo with ‘antagomiRs’ [J]. *Nature*, 2005, 438(7068):685–689.
- [26] Nisticò P, Bissel MJ, Radisky DC. Epithelial-mesenchymal transition: general principles and pathological relevance with special emphasis on the role of matrix metalloproteinases[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(2):a011908.
- [27] Kong D, Li Y, Wang Z, et al. Cancer stem cells and epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)-phenotypic cells: are they cousins or twins? [J]. *Cancers (Basel)*, 2011, 3(1):716–729.