

EMT 介导膀胱癌耐药的机制及相关分子

王婵娟¹, 朱 熹²

(1. 北京大学第三医院, 北京 100191; 2. 首都医科大学附属北京友谊医院, 北京 100050)

摘要: 化疗是治疗膀胱癌的重要手段, 但是随着化疗的进行, 肿瘤细胞往往对单药或多药化疗产生耐药, 严重影响患者的预后。近年来研究表明, 膀胱癌耐药性的产生受肿瘤微环境中多种信号分子的调节, 上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 在其中发挥着关键性作用, 多种分子通过不同的信号通路参与到 EMT 介导的膀胱癌耐药机制中。全文就 EMT 相关耐药机制进行探讨, 旨在为 EMT 介导的耐药膀胱癌患者寻找新的治疗策略。

关键词: 膀胱肿瘤; 上皮-间充质转化; 化疗耐药; 信号分子

中图分类号: R737.14 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)08-0813-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.08.B012

Mechanisms and Related Molecules of EMT-induced Chemoresistance in Bladder Cancer

WANG Chan-juan¹, ZHU Xi²

(1. Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China; 2. Beijing Friendship Hospital Capital University, Beijing 100050, China)

Abstract: Chemotherapy plays an important role in the treatment of bladder cancer. However, the use of chemotherapeutics more than often leads to development of resistance in cancer cells to single- or multi-drug therapy, which seriously affects the prognosis of patients. Recent studies show that chemoresistance is regulated by various types of signaling molecules in the tumor microenvironment, and that epithelial-mesenchymal transition (EMT) plays a crucial part in this process. Different types of molecules can participate in EMT-induced chemoresistance via different signaling pathways. In this review, the mechanisms of EMT-related chemoresistance were identified in attempt to formulate new therapeutic strategies for bladder cancer patients who have developed chemoresistance.

Subject words: urinary bladder neoplasms; epithelial-mesenchymal transition; chemoresistance; signaling molecules

膀胱癌是最常见的尿路系统肿瘤, 虽然跟胰腺癌、肺癌等肿瘤相比, 其死亡率相对较低, 但其复发率和进展风险高, 这主要是因膀胱癌细胞对化疗药物产生耐药性所致^[1]。近年来, 越来越多的研究致力于寻找膀胱癌发生耐药的机制, 并试图采用多药联合治疗膀胱癌以逆转其耐药, 目前治疗策略主要包括化疗药物联合上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 抑制剂、肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs) 抑制剂、肿瘤微环境成分抑制剂等^[2]。EMT 在膀胱癌耐药过程中发挥着关键的作用, 研究

其引发膀胱癌耐药的机制对于发现新的治疗靶点具有重要意义。

1 EMT 简介

EMT 是以细胞失去上皮表型、改变极性和骨架为特征的生物学过程, 在胚胎发育、器官形成和组织损伤修复过程中发挥着重要的作用。EMT 相关分子标志物很多, 主要包括细胞表面蛋白、细胞骨架蛋白、细胞外基质蛋白和转录因子等。其中, 细胞连接蛋白的降解或移位是 EMT 起始的主要标志, 例如, 闭合蛋白 (claudin)、咬合蛋白 (occludin) 和人紧密连接蛋白-1 (human tight junction protein 1, ZO-1) 的减少导致紧密连接被破坏, 而上皮钙黏素 (epithelial cad-

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (61401290); 北京市医院管理局青年人才培养“青苗”计划 (QML20160104)

通讯作者: 朱熹, 主治医师, 博士; 首都医科大学附属北京友谊医院泌尿外科, 北京市西城区永安路 95 号 (100050); E-mail: alex_850107@hotmail.com

收稿日期: 2017-06-06; **修回日期:** 2017-07-24

herin, E-cad)的降解和神经钙黏素(mesenchymal neural cadherin, N-cad)的增加导致黏附连接的不稳定,同时使得原本与 E-cad 相连的 β -连环蛋白(β -catenin)降解或入核。另外,细胞中间丝成分改变引起的细胞极性和骨架重排也是 EMT 的重要特征之一,其以细胞角蛋白(cytokeratin)表达下调以及波形蛋白(vimentin)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)表达上调为特征,以此来增强细胞的迁移能力^[3]。EMT 相关转录因子,如 SNAIL、ZEB 和 TWIST 等,是 EMT 信号转导及其发挥生物学作用的关键因素。但是,由于这些转录因子存在不同的表达谱,因此其对 EMT 的作用随着组织细胞以及起始信号通路的不同而呈现多样性^[4]。

EMT 是一个动态的过程,它可以由转化生长因子(transforming growth factor- β , TGF- β)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等胞外信号分子的相互作用来触发。研究指出, Wnt、TGF- β 和核因子- κ B (nuclear factor, NF- κ B)是诱导 EMT 发生的关键信号通路^[5]。近年来随着对 EMT 研究的深入,越来越多相关的分子及通路被发现,这对于理解 EMT 的作用及寻找相应的治疗靶点具有重要的意义。

研究表明,EMT 与膀胱癌细胞的侵袭和转移密切相关,同时其还参与肿瘤细胞耐药性的产生^[6]。Bryan 等^[7]通过总结膀胱癌中钙黏素的表达情况发现,约 20% T_a 期、60% T_i 期和 80% 肌层浸润性膀胱癌(muscle invasive bladder cancer, MIBC)中呈现 E-cad 表达下调甚至缺失、N-cad 和 P-cad 表达上调,而 P-cad 表达增加导致膀胱癌的预后差。Fondreville 等^[8]发现,吸烟可以增加 Twist 表达,而 Twist 表达与 E-cad 表达呈负相关,与膀胱癌的分期、分级呈正相关。Paliwal 等^[9]研究发现,除 Twist 之外, cytokeratin、E-cad 和 vimentin 的表达也与膀胱癌的分期、分级相关。

2 EMT 介导膀胱癌耐药的机制

2.1 EMT 和 ATP 结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运体

ABC 转运体广泛地表达于多种组织和药理屏障,对于保护机体免受外源性化学物的侵害具有重

要意义。研究表明,在多种肿瘤中存在着 ABC 转运体过表达的现象,继而可增加药物外排导致肿瘤细胞产生耐药性^[10]。近年来研究发现,ABC 转运体的启动子上结合有 EMT 相关转录因子, Twist、Snail 和 FOXC2 等转录因子的过表达增加了 ABC 转运体启动子的活性,从而增强肿瘤细胞对化疗药物的耐药^[11]。因此,ABC 转运体被认为是 EMT 的一个重要靶点。

ABC 转运体主要包括 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance proteins, BCRP)和多药耐药相关蛋白(multidrug resistance associated proteins, MRPs)等^[12]。Chen 等^[13]通过对膀胱癌细胞和组织进行研究发现, Twist 与 P-gp 存在着共表达,耐药细胞系中呈现 P-gp 高水平表达和 Twist 核移位现象,而敲减 Twist 可以下调 P-gp 的表达,从而显著提高膀胱癌细胞对蒽环类药物的敏感性,提示 ABC 转运体在 EMT 介导的膀胱癌耐药中发挥着关键作用。

2.2 EMT 和 CSCs

CSCs 是肿瘤细胞中具有干细胞特性的少数细胞群体,在肿瘤的发生、进展和耐药方面发挥着重要作用。由于 CSCs 具有很大的异质性,寻找针对不同肿瘤 CSCs 的共同分子标志物成为目前研究亟待解决的问题。与其他肿瘤细胞相比, CSCs 具有更强的耐药性,在化疗过程中更容易“幸存”下来,因此被视为导致治疗失败的主要原因之一^[14]。

Brabletz 等^[15]提出将 CSCs 分为静止 CSCs (stationary CSCs, SCSCs)和迁移 CSCs (migrating CSCs, MCSCs)两类,从而将 CSCs 和 EMT 的概念整合到了一起。他们认为, SCSCs 具有干细胞特性但是不能发生迁移,而在肿瘤微环境中 EMT 相关因子的刺激下,可以激活 EMT 程序使其转化为 MCSCs,进而经过血流发生远处转移。同样地,最近表观遗传编程已经在多种肿瘤中证实了 CSCs 和 EMT 的生物学联系^[16]。Bentivegna 等^[17]在膀胱癌组织中分离出具有高度生物异质性的 CSCs,并发现其高表达干细胞标志物 CD133 和 Oct-3/4 等,具有较强的体外分化潜能。Zhang 等^[18]对膀胱癌的研究发现,顺铂耐药的 T24 细胞中 CSCs 和 EMT 相关标志物的表达均明显上调,并且其具有更强的迁移能力和成瘤潜能,提示 EMT 介导的膀胱癌耐药与 CSCs 具有密切的关系。

3 EMT 介导膀胱癌耐药的相关分子

3.1 Notch 通路

研究指出, Jagged-1 介导的 Notch 信号通路在生理和病理条件下均参与 EMT 过程, 并且其可调节 Snail、Slug、TGF- β 、FGF 等 EMT 相关分子的表达^[19]。Wang 等^[20]研究发现, Notch 受体拮抗剂—— γ 分泌酶抑制物 (γ -secretase inhibitor, GSI), 可以完全抑制 Notch 信号通路, 继而抑制膀胱癌细胞系 T24、5637 和 J87 中 EMT 相关分子的表达, 诱导细胞形态改变, 并同时观察到膀胱癌细胞的增殖、侵袭及其对米托蒽醌的耐药性均显著下降。类似地, Zhang 等^[21]最新研究发现, 敲减 Notch3 后可以显著增强膀胱癌细胞对顺铂的敏感性, 并且 Notch3 表达水平高的患者预后较差。因此, 联合 Notch 通路拮抗剂或许可以增强膀胱癌患者对化疗药物的敏感性。

3.2 Twist 通路

DAB2IP 是 RAS-GTP 酶活化蛋白 (RAS-GTPase activating protein, RAS-GAP) 家族的一员, 在膀胱癌等多种肿瘤中表达下调。Wu 等^[22]研究发现, 在膀胱癌中 DAB2IP 与 Twist1 的表达呈负相关, 并且过表达 DAB2IP 可以增强膀胱癌细胞对吡柔比星的敏感性, 其机制可能是 DAB2IP 通过抑制 STAT3 的磷酸化和转录激活, 进而抑制 Twist1 及其靶基因 P-gp 的表达。Yang 等^[23]的研究同样证实了 Twist 在调控 EMT 介导膀胱癌耐药方面的重要作用, 他们发现, 真核细胞翻译起始因子 (eukaryotic translation initiation factor 5A2, eIF5A2) 的敲减可以下调膀胱癌细胞中 Twist1 的表达, 进而逆转阿霉素诱导的 E-cad 和 vimentin 的表达, 即逆转 EMT 过程, 同时也增强了阿霉素对细胞的毒性作用。因此, N1-鸟苷-1,7-二氨基庚烷 (N1-guanyl-1,7-diaminoheptane, GC7) 作为 eIF5A2 的抑制剂, 或许可以增强临床上阿霉素的化疗效果。

3.3 Snail 通路和 Zeb1/2 通路

Snail 家族包括 Snail1, Snail2 (也称 Slug) 和 Snail3, 是激活 EMT 重要的转录因子, 它可以通过羧基端的锌指结构域结合到 E-盒 DNA 序列, 从而抑制上皮基因的表达^[24]。Wu 等^[25]研究指出, 在膀胱癌细胞系中过表达 Slug 可以促进 EMT, 并且增强细胞的迁移能力和耐药性。跟 Snail 一样, Zeb 也是具有

锌指结构域的 EMT 相关转录因子。研究表明, Zeb1/2 是微小 RNA (microRNA, miRNA) 200 和 205 的作用靶点, miR200 可以通过抑制膀胱癌细胞中 Zeb1/2 的表达而增加 E-cad 的表达, 从而增强细胞对表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 抑制剂的敏感性^[26]。

3.4 其他

除了上述分子及信号通路之外, 仍有许多其它分子通过调控 EMT 介导膀胱癌耐药。Zhu 等^[27]研究发现, Jarid2 参与 TGF- β 诱导的 EMT 过程, 在 CSCs 中呈现高表达, 其可能是通过抑制抑癌基因 p16 来促进膀胱癌细胞的耐药。Sun 等^[28]研究认为, NF- κ B 信号通路在顺铂诱导的膀胱癌耐药中发挥着重要的作用, 而 Chen 等^[29]发现, 下调胞质分裂促进子 1 (dedicator of cytokinesis 1, DOCK1) 可以通过抑制 EMT 来增强膀胱癌细胞对顺铂治疗的敏感性。醛-酮还原酶家族 1 成员 C1 (Aldo-keto reductase family 1, member C1, AKR1C1) 与膀胱癌耐药的关系经 Matsumoto 等^[30]研究证实, 发现抑制 AKR1C1 的活性可以逆转膀胱癌细胞对顺铂的耐药, 而 IL-1 β 可以诱导 AKR1C1 的表达。

4 EMT 作为膀胱癌的治疗靶点

Black 等^[31]研究发现, E-cad 表达缺失降低了膀胱癌对西妥昔单抗的敏感性, 因此逆转 EMT 或许可以提高 EGFR 靶向治疗的疗效。Hänze 等^[32]研究发现, 根据 E-cad 和 N-cad 表达水平来监测 EMT 状态, 可以用来预测膀胱癌对酪氨酸激酶受体抑制剂多韦替尼 (TKI-258) 的敏感性。近年来研究发现, 姜黄素可以上调 E-cad 的表达, 而雷公藤内酯可以抑制低氧诱导的 EMT, 有望作为 EMT 的抑制剂用于肿瘤的治疗^[33,34]。

EMT 在膀胱癌耐药中发挥着重要的作用, 信号分子可通过不同的信号通路来激活 EMT, 而 EMT 进一步通过 ABC 转运体或 CSCs 来介导膀胱癌细胞发生耐药。常规化疗联合 EMT 相关分子靶向药物治疗膀胱癌可能逆转化疗耐药, 给患者带来更好的疗效。但是, 由于 EMT 相关信号分子众多, 而且各信号通路存在交叉联系, 彼此之间可能存在反馈调节, 因此在用药时一定要权衡利弊, 慎重选择。

参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7–30.
- [2] van der Horst G, Bos L, van der Pluijm G. Epithelial plasticity, cancer stem cells, and the tumor-supportive Stroma in Bladder Carcinoma[J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10(8): 995–1009.
- [3] Huang RY, Guilford P, Thiery JP. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 19): 4417–4422.
- [4] De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(2): 97–110.
- [5] Sabbah M, Emami S, Redeuilh G, et al. Molecular signature and therapeutic perspective of the epithelial-to-mesenchymal transitions in epithelial cancers [J]. *Drug Resist Updat*, 2008, 11(4–5): 123–151.
- [6] McConkey DJ, Choi W, Marquis L, et al. Role of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in drug sensitivity and metastasis in bladder cancer [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2009, 28(3): 335–344.
- [7] Bryan RT. Cell adhesion and urothelial bladder cancer: the role of cadherin switching and related phenomena[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2015, 370(1661): 20140042.
- [8] Fondreville ME, Kantelip B, Reiter RE, et al. The expression of Twist has an impact on survival in human bladder cancer and is influenced by the smoking status [J]. *Urol Oncol*, 2009, 27(3): 268–276.
- [9] Paliwal P, Arora D, Mishra AK. Epithelial mesenchymal transition in urothelial carcinoma: twist in the tale[J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2012, 55(4): 443–449.
- [10] Fletcher JI, Haber M, Henderson MJ, et al. ABC transporters in cancer: more than just drug efflux pumps[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(2): 147–156.
- [11] Saxena M, Stephens MA, Pathak H, et al. Transcription factors that mediate epithelial – mesenchymal transition lead to multidrug resistance by upregulating ABC transporters[J]. *Cell Death Dis*, 2011, 2(7): e179.
- [12] Leslie EM, Deeley RG, Cole SP. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 204(3): 216–237.
- [13] Chen Y, Li L, Zeng J, et al. Twist confers chemoresistance to anthracyclines in bladder cancer through upregulating P-Glycoprotein[J]. *Chemotherapy*, 2012, 58(4): 264–272.
- [14] Soltanian S, Matin MM. Cancer stem cells and cancer therapy[J]. *Tumour Biol*, 2011, 32(3): 425–440.
- [15] Brabletz T, Jung A, Spaderna S, et al. Migrating cancer stem cells—an integrated concept of malignant tumour progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(9): 744–749.
- [16] Tam WL, Weinberg RA. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer [J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1438–1449.
- [17] Bentivegna A, Conconi D, Panzeri E, et al. Biological heterogeneity of putative bladder cancer stem-like cell populations from human bladder transitional cell carcinoma samples[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(2): 416–424.
- [18] Zhang Y, Wang Z, Yu J, et al. Cancer stem-like cells contribute to cisplatin resistance and progression in bladder cancer[J]. *Cancer Lett*, 2012, 322(1): 70–77.
- [19] Wang Z, Li Y, Kong D, et al. The role of Notch signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition (EMT) during development and tumor aggressiveness [J]. *Curr drug targets*, 2010, 11(6): 745–751.
- [20] Wang Y, Wang G, Zhang X, et al. γ -secretase inhibitor inhibits bladder cancer cell drug resistance and invasion by reducing epithelial-mesenchymal transition [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 2821–2827.
- [21] Zhang H, Liu L, Liu C, et al. Notch3 overexpression enhances progression and chemoresistance of urothelial carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(21): 34362–34373.
- [22] Wu K, Wang B, Chen Y, et al. DAB2IP regulates the chemoresistance to pirarubicin and tumor recurrence of non-muscle invasive bladder cancer through STAT3/ Twist1/P-glycoprotein signaling [J]. *Cell Signal*, 2015, 27(12): 2515–2523.
- [23] Yang J, Yu H, Shen M, et al. N1-guanyl-1,7-diaminoheptane sensitizes bladder cancer cells to doxorubicin by preventing epithelial-mesenchymal transition through inhibition of eukaryotic translation initiation factor 5A2 activation[J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(2): 219–227.
- [24] Barrallo-Gimeno A, Nieto MA. The snail genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer[J]. *Development*, 2005, 132(14): 3151–3161.
- [25] Wu K, Zeng J, Zhou J, et al. Slug contributes to cadherin switch and malignant progression in muscle-invasive bladder cancer development[J]. *Urol Oncol*, 2013, 31(8): 1751–1760.
- [26] Adam L, Zhong M, Choi W, et al. miR-200 expression regulates epithelial-to-mesenchymal transition in bladder cancer cells and reverses resistance to epidermal growth factor receptor therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(16):

- 5060–5072.
- [27] Zhu XX, Yan YW, Ai CZ, et al. Jarid2 is essential for the maintenance of tumor initiating cells in bladder cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15):24483–24490.
- [28] Sun Y, Guan Z, Liang L, et al. NF-kappaB signaling plays irreplaceable roles in cisplatin-induced bladder cancer chemoresistance and tumor progression [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(1):225–234.
- [29] Chen J, Chen D, Chen W, et al. Downregulation of DOCK1 sensitizes bladder cancer cells to cisplatin through preventing epithelial-mesenchymal transition [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10:2845–2853.
- [30] Matsumoto R, Tsuda M, Yoshida K, et al. Aldo-keto reductase 1C1 induced by interleukin-1 β mediates the invasive potential and drug resistance of metastatic bladder cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1):34625.
- [31] Black PC, Brown GA, Inamoto T, et al. Sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibitor requires E-cadherin expression in urothelial carcinoma cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(5):1478–1486.
- [32] Hänze J, Henrici M, Hegele A, et al. Epithelial mesenchymal transition status is associated with anti-cancer responses towards receptor tyrosine-kinase inhibition by dovitinib in human bladder cancer cells [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13:589.
- [33] Chen CC, Sureshbabul M, Chen HW, et al. Curcumin suppresses metastasis via Sp-1, FAK inhibition, and E-cadherin upregulation in colorectal cancer [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013:541695.
- [34] Liu L, Salnikov AV, Bauer N, et al. Triptolide reverses hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition and stem-like features in pancreatic cancer by NF- κ B downregulation[J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(10):2489–2503.

作者/通讯作者校对文稿须知

作者/通讯作者自校拟发排校样稿,是期刊出版工作中不可缺少的重要环节,也是确保期刊质量的重要手段。特此重申,请作者/通讯作者务必按以下要求进行校对:

1. 首先全面校对全文,对编辑提出的校样稿中需特别注意校对及需补充的内容,必须以改正或解释。
2. 所有需修改和补充的内容,均请用红笔将正确的字符书写清楚(避免使用不规范的汉字);必须改动的字符,直接在校样稿的空白处写出,所增删字数最好相符。
3. 文题、作者、单位名称、邮政编码、通讯作者等信息,务必确认无误。
4. 对正文文字(包括外文字母及大小写)、标点符号、数据、图表、计量单位、参考文献等应认真细致逐一校对;请用规范的通用药品名称(不用商品名)和医学名词,认真核查并使用标准计量单位及药物剂量。
5. 参考文献缺项的部分,应按本刊规定的著录格式进行补充。请作者务必认真核实所引用文献是否正确,并核查正文中角码是否与文后所列参考文献序号对应。
6. 校对完毕请作者/通讯作者签名,并在规定的日期内将校样稿寄回编辑部。如有要求补充的资料,也需一并寄回。
7. 由于出版周期的限制,如作者/通讯作者不能在规定时间内校对寄回,请及时联系本刊编辑部说明原因,否则可能造成该文稿延期出版,或者取消刊发。