

文章编号: 1004-0374(2009)04-0556-04

## 上皮间质转化在肿瘤侵袭转移中的研究进展

张慧君<sup>1</sup>, 朱 军<sup>1</sup>, 刘鸿程<sup>1</sup>, 王和勇<sup>1,2\*</sup>, 陈晓峰<sup>1\*</sup>

(1 同济大学附属上海市肺科医院, 上海 200433; 2 同济大学医学院肿瘤研究所, 上海 200433)

**摘 要** 上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transitions, EMT)是上皮细胞向间质细胞转化的现象,不仅参与胚胎发育和正常生理,还参与许多病理过程。同样EMT也参与肿瘤的发生与发展,尤其在促进肿瘤侵袭转移中发挥着重要作用。研究表明,肿瘤细胞借助EMT方式增强肿瘤细胞迁移和运动能力,促进肿瘤的侵袭与转移。在肿瘤侵袭转移历程中,关于EMT发生的分子调控机制研究已取得了良好的进展,但其详细机制仍然不是十分清楚。本文主要介绍生长因子、转录因子、miRNAs、甲基化及其他调控因子在肿瘤EMT中的调控功能,进一步综述EMT在肿瘤侵袭转移中的作用。

**关键词:** 上皮-间质转化; 肿瘤; 肿瘤侵袭转移

**中图分类号:** R73-37; R730.22 **文献标识码:** A

## The research progress of epithelial-mesenchymal transition in tumor invasion and metastasis

ZHANG Hui-jun<sup>1</sup>, ZHU Jun<sup>1</sup>, LIU Hong-cheng<sup>1</sup>, WANG He-yong<sup>1,2\*</sup>, CHEN Xiao-feng<sup>1\*</sup>

(1 Shanghai Pulmonary Hospital, Tongji University, Shanghai 200433, China; 2 Department of Oncology, Shanghai Pulmonary Hospital, Medical School of Tongji University, Shanghai 200433, China)

**Abstract:** Epithelial-mesenchymal transitions (EMT) where cells undergo a switch from epithelial phenotype to mesenchymal phenotype exists not only in the embryo development and physiological processes, but also participates in many pathological processes. EMT plays an important role in the development of tumor, especially in the progress of tumor invasion and metastasis. It has been demonstrated that turning tumor epithelial cells into mesenchymal cells made cells gain more ability of migration and locomotion and enhanced the ability of tumor invasion and metastasis. In the progress of tumor invasion and metastasis, the molecular mechanism of EMT is still unknown, but many relevant researches of EMT have had a good progress. This review mainly involves many molecular regulatory functions of growth factors, transcription factors, miRNAs, DNA methylation and other control factors in EMT and the role of EMT in the progress of tumor invasion and metastasis.

**Key words:** EMT; tumor; tumor invasion and metastasis

上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transitions, EMT)是一种基本的生理病理现象,参与胚胎的形成、发育和肿瘤的侵袭转移,并以上皮表型缺失和间质表型获得为主要特征。Greenburg和Hay<sup>[1]</sup>在研究晶状体上皮细胞时发现,这种上皮细胞可在胶原凝胶中形成伪足,转变成能够在细胞间质中自由移动的间质细胞,培养中的上皮细胞可获得间质细胞的特征,于1982年提出了上皮-间质转化的概念。上皮-间质转化是在特殊诱导因子的作用下细胞由上

皮表型转化成间质表型的过程。在此过程中,不仅细胞表型发生了变化,而且细胞标记物也发生了变化:上皮标记物,如E-钙黏蛋白、角蛋白等表达降低,同时间质标记物,如波形蛋白、纤维连接

收稿日期: 2009-01-16; 修回日期: 2009-03-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(30872553; 30800631)

\*通讯作者: 陈晓峰, E-mail: Cxf229900@yahoo.com.cn; 王和勇, E-mail: heyongwang@hotmail.com.cn

素、N-钙黏蛋白、 $\alpha$ -SMA等表达增加。研究已发现众多调控因子参与上皮间质转化的发生,研究较多的调控因子包括生长因子和转录因子。最近发现miRNAs与DNA甲基化也参与上皮间质转化的调控。

有关EMT的发现最早源于胚胎发育的研究,现在关注较多的是在肿瘤方面的研究。EMT在肿瘤细胞侵袭与转移中起着重要的作用,因而也成为肿瘤研究的一个热点。

## 1 调控EMT发生的分子机制

**1.1 生长因子的诱导** 生长因子在诱导肿瘤细胞发生EMT中的作用备受关注。生长因子,如肝细胞生长因子(HGF)、表皮生长因子(EGF)、转化生长因子(TGF- $\beta$ )、胰岛素样生长因子(IGF)、血管内皮细胞生长因子(VEGF)等与上皮细胞表面相应受体结合,经不同的信号通路影响细胞黏附分子和细胞骨架功能。HGF和纤维母细胞生长因子(FGF)可通过RAS/MAPK或者PI3K通路诱导细胞发生EMT。Lee等<sup>[2]</sup>研究表明,EGF作用于子宫鳞状上皮细胞使其形态变长,细胞间连接变得松散,细胞侵袭力提高,进一步证实EGF可下调E-钙黏蛋白表达和上调波形蛋白表达,诱发EMT。另外,EGFR信号可使糖原合成激酶-3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ )失活,上调Snail诱发EMT。TGF- $\beta$ 与其受体结合后,激活细胞内Smad信号通路,调控高迁移率蛋白A2(high mobility group A2 protein, HMGA2)基因,后者通过调节转录因子Snail、Slug、Twist和分化抑制因子2(inhibitor of differentiation 2, Id2),抑制E-钙黏蛋白表达,诱导EMT发生<sup>[3,4]</sup>。在MDCK(Madin-Darby canine kidney)细胞中,TGF- $\beta$ 1也可通过MAPK信号通路上调Snail表达和促进EMT。最近研究发现,TGF- $\beta$ 可通过Smad4信号通路诱导miR155表达,促进EMT发生<sup>[5]</sup>。另外,一些炎症因子(IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ )可上调TGF $\beta$ 1R-I表达并增强Smad信号,促进TGF- $\beta$ 1诱导癌细胞株A549发生EMT<sup>[6]</sup>。TGF- $\beta$ 在肿瘤发生发展中扮演着双重角色,既能促进肿瘤的侵袭和转移,又能抑制肿瘤细胞的生长<sup>[7]</sup>。在前列腺癌中,胰岛素样生长因子-I(insulin-like growth factor-I, IGF-I)可上调ZEB1表达,抑制E-钙黏蛋白,促进EMT发生<sup>[8]</sup>。

**1.2 转录因子的调控** 目前,已发现转录因子,如Twist、Snail、Slug、NF- $\kappa$ B、ZEB1、SIP1、E12/E47等多种转录因子可促进EMT。Twist是一个高度保守的转录因子,它可能与E-box序列结

合,下调E-钙黏蛋白表达,激活间质细胞标记物,促进EMT<sup>[9]</sup>。NF- $\kappa$ B可与波形蛋白基因启动子调节序列结合,促进Twist表达,诱导EMT发生<sup>[10]</sup>。另外,NF- $\kappa$ B可上调ZEB1,后者可抑制多种重要的上皮分化和细胞黏附因子,包括细胞极性基因Crumbs3、HUGL2和Pals1相关的紧密连接蛋白,从而抑制E-钙黏蛋白,诱发EMT<sup>[11,12]</sup>。Snail和Slug可与保守E-Box结合抑制一些基因的表达,包括E-钙黏蛋白、紧密连接蛋白(如Occludin和Claudin)及其重要的调控子如钠、钾-ATP酶的 $\beta$ 亚基等的表达。同时Snail和Slug还可直接抑制上皮标记物,如Cytokeratin-8、Mucin-1的表达<sup>[13]</sup>和促进RhoB(一种与增加细胞移动性有关的GTP酶)的形成<sup>[14]</sup>,促进EMT并提高细胞转移能力。

**1.3 miRNAs的调控** miRNAs是一类新的、内源性、非编码的小分子RNAs,长度约22nt,广泛存在于真核生物中。miRNA通过与靶mRNA 3'-UTR区完全或部分互补结合,导致靶mRNA降解或转录后翻译抑制,从而调控靶基因的表达。miRNA-200家族(包括miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141和miR-429)和miR-205共同调节E-钙黏蛋白转录抑制因子ZEB1和SIP1,这些miRNAs表达下降可上调ZEB1和SIP1(与EMT和肿瘤的转移密切相关),抑制E-钙黏蛋白表达,诱发EMT。相反,这些miRNAs过表达可逆转EMT,诱发间质-上皮转化(MET)<sup>[15]</sup>。另外miR-155在EMT中也起重要作用,miR-155可下调RhoA表达,破坏细胞间的紧密连接,促进细胞侵袭和转移<sup>[5]</sup>。

**1.4 DNA甲基化的调控** DNA甲基化是最早发现的修饰途径之一,大量研究表明,DNA甲基化能引起染色质结构、DNA构象、DNA稳定性及DNA与蛋白质相互作用方式的改变,从而控制基因表达。

Prasad等<sup>[16]</sup>发现,E-钙黏蛋白编码基因(CDH1)和腺瘤性结肠息肉病(APC)启动子的甲基化不仅与E-钙黏蛋白和APC蛋白的缺失有关,而且与wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活有关。wnt/ $\beta$ -catenin信号通路可诱导EMT的发生,提示甲基化在调节EMT中起着重要作用。Rojas等<sup>[17]</sup>研究证实,血小板反应素/凝血酶敏感蛋白1(thrombospondin 1, TSP1)基因启动子甲基化可抑制TGF- $\beta$ 信号通路转导,阻止EMT;而TSP1甲基化的逆转可激活TGF- $\beta$ 受体,促进EMT。Lujambio等<sup>[18]</sup>研究表明,与肿瘤转移相关的miRNAs可促进和抑制肿瘤发生与转移,miRNAs基因启动子CpG岛的甲基化使具有肿瘤抑

制特征的 miRNAs 沉默, 从而促进肿瘤转移, 说明 DNA 甲基化可能借助具有肿瘤抑制特征的 miRNAs 沉默促进 EMT。

**1.5 其他调控因子** p70 S6 是磷脂酰肌醇激酶-3 的下游效应子。在人类卵巢癌中常处于激活状态, p70 S6 可通过上调 Snail 表达, 抑制 E-钙黏蛋白表达和增加 N-钙黏蛋白及波形蛋白表达, 诱导 EMT 发生<sup>[19]</sup>。Dasgupta 等<sup>[20]</sup>研究表明, 尼古丁可诱导 EMT 相关基因表达, 如 E-钙黏蛋白表达下调及形蛋白和纤维连接素等表达上调。KCl 协同转运蛋白-3 (KCl cotransporter-3, KCC3) 也可下调 E-钙黏蛋白表达促进 EMT<sup>[21]</sup>。整合素  $\alpha_5\beta_1$  (integrin  $\alpha_5\beta_1$ ) 信号和细胞外基质纤维连接素也能调节 EGF 促进 EMT 发生<sup>[2]</sup>。雌激素受体- $\alpha$  是上皮细胞形成的一个重要的调节因子, 它可通过转移相关蛋白-3 (metastasis-associated protein 3, MTA-3) 抑制 Snail 的表达。在乳腺癌中, 雌激素受体- $\alpha$  缺失使 Snail 表达上调, 从而促进 EMT 发生。另外, Dhasarathy 等<sup>[22]</sup>研究发现, 雌激素受体- $\alpha$  的缺失能激活 TGF- $\beta$  信号通路, 诱导 EMT。对非小细胞肺癌细胞株的研究发现, I 型胶原蛋白可激活 TGF- $\beta$ 3 信号, 诱导 EMT<sup>[23]</sup>。Arima 等<sup>[24]</sup>证实视网膜母细胞瘤抑癌蛋白 Rb 表达减少可上调 EMT 相关的转录因子, 如 Slug、ZEB-1 的表达, 抑制 E-钙黏蛋白, 诱发 EMT。

## 2 EMT 在肿瘤侵袭转移中作用研究

肿瘤侵袭转移指恶性肿瘤细胞脱离其原发部位, 通过各种渠道转运到不连续的靶组织继续增殖生长成同样性质肿瘤的过程, 即细胞从原发肿瘤向远端器官的扩散及其随后的生长。目前已经清楚肿瘤侵袭转移潜力依赖于肿瘤细胞和促进肿瘤细胞生长、生存、血管形成、侵袭、转移等内环境因素的相互作用, 其中 EMT 是肿瘤细胞侵袭转移的主要因素之一。

EMT 发生主要涉及 E-钙黏蛋白表达及其稳定性的改变。在正常组织中 E-钙黏蛋白的表达是稳定的, 但在癌组织中表达是不稳定的, E-钙黏蛋白作为细胞间重要的黏附分子, 其表达与肿瘤侵袭转移能力成负相关, E-钙黏蛋白水平下降可导致细胞黏附力降低, 从而促进肿瘤侵袭与转移。体外实验证实, E-钙黏蛋白黏附能力的丧失是肿瘤细胞获得去分化和侵袭力的第一步, 并指出 E-钙黏蛋白具有抑制肿瘤侵袭转移的作用<sup>[25]</sup>。E-钙黏蛋白的表达存在于许多人体肿瘤中, 如大肠癌、胃癌、乳腺癌、食管癌、肝癌、肾癌、前列腺癌等, 这些人体恶

性肿瘤细胞中的 E-钙黏蛋白常呈低表达, 且低表达组比高表达组侵袭能力强。另外一些转录因子, 如 Snail 与食管鳞状上皮癌、胃癌、结肠直肠癌的侵袭和转移有关; Slug 与胃癌转移有关; Twist 与胰腺癌、胃癌、乳腺癌、前列腺癌、神经胶质瘤转移等有关; ZEB1 与直肠癌、乳腺癌<sup>[11]</sup>转移有关。

一些生长因子可通过各种信号通路诱导肿瘤发生 EMT, 增强肿瘤侵袭转移能力。转录因子可调控 E-钙黏蛋白促进 EMT, 导致肿瘤侵袭转移。同样, miRNAs 也参与肿瘤侵袭转移, 如在癌细胞株中 miR-200 呈低表达, 使 E-钙黏蛋白表达下调, 促进 EMT, 导致癌细胞移动能力提高。另外, 在浸润性乳腺癌细胞株中发现 miR-200 表达缺失<sup>[26]</sup>, 表明 miR-200 与 EMT、肿瘤侵袭转移之间存在着重要联系。

TMPRSS4 是一种新型的跨膜丝氨酸蛋白酶-II, 虽然在前列腺癌、结肠癌、胃癌中高度表达, 但其生物功能目前还不太清楚。Jung 等<sup>[27]</sup>发现, TMPRSS4 在肺癌、结肠癌中表达显著提高, 其过表达可降低 E-钙黏蛋白表达, 导致 EMT 发生, 增强肿瘤侵袭转移能力。

## 3 问题与展望

EMT 不仅在胚胎形成发育中起重要作用, 而且在肿瘤侵袭转移中同样也发挥重要作用。因此, 对 EMT 分子调控机制的研究为预防肿瘤转移提供一个有利的平台。EMT 涉及到众多的调控机制, 许多有关 EMT 的调控机制已被报道, 但详细调控机制仍不清楚, 如生长因子在诱导 EMT 过程中怎样联系; 作为转录因子的 Twist 诱导 EMT 的详细调控机制是什么。miRNAs 作为一类新型的调控转录后基因表达水平的小分子 RNAs, 在肿瘤中既可高表达, 又可低表达, 并与肿瘤 EMT 的发生有着密切的联系, 而它们的调控机制还需进一步研究。EMT 调控因子可使肿瘤细胞发生 EMT, 促进肿瘤侵袭转移。目前越来越多的学者开始致力于通过各种方法抑制 EMT 而降低肿瘤的侵袭与转移, 已有试验针对 TGF- $\beta$ 1 抑制 EMT, 从而逆转肿瘤侵袭, 如使用 TGF- $\beta$  阻滞剂降低肿瘤的侵袭性<sup>[28]</sup>, 另外发现, 骨形成蛋白 (bone morpho-genetic protein, BMP) 也可逆转 TGF- $\beta$ 1 引起 E-钙黏蛋白表达下调<sup>[29]</sup>。

EMT 的发生所涉及众多调控机制中大多数都是建立在体外实验基础上研究的, 但由于体内外环境差别较大, 要想更好地了解 EMT 的调控机制及其在肿瘤侵袭转移中的作用, 必须探讨 EMT 在体内的

研究, 才能更好地为临床肿瘤发生与转移的预防和治疗提供新思路。

### [参 考 文 献]

- [1] Greenburg G, Hay ED. Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells. *J Cell Biol*, 1982, 95(1): 333-9
- [2] Lee MY, Chou CY, Tang MJ, et al. Epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer: correlation with tumor progression, epidermal growth factor receptor overexpression and snail up-regulation. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(15): 4743-50
- [3] Thuault S, Valcourt U, Petersen M, et al. Transforming growth factor- $\beta$  employs HMGA2 to elicit epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Biol*, 2006, 174(2): 175-83
- [4] Thuault S, Tan EJ, Peinado H, et al. HMGA2 and Smads co-regulate SNAIL1 expression during induction of epithelial-to-mesenchymal transition. *J Biol Chem*, 2008, 283(48): 33437-46
- [5] Kong WL, Yang H, He LL, et al. MicroRNA-155 is regulated by the transforming growth factor- $\beta$ /Smad pathway and contributes to epithelial cell plasticity by targeting RhoA. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(22): 6773-84
- [6] Liu X. Inflammatory cytokines augments TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal transition in A549 cells by up-regulating T $\beta$ R-I. *Cell Motil Cytoskeleton*, 2008, 65(12): 935-44
- [7] Roberts AB, Wakefield LM. The two faces of transforming growth factor- $\beta$  in carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(15): 8621-3
- [8] Graham TR, Zhou HE, Odero-Marah VA, et al. Insulin-like growth factor-I-dependent up-regulation of ZEB1 drives epithelial-to-mesenchymal transition in human prostate cancer. *Cancer Res*, 2008, 68(7): 2479-88
- [9] Yang J, Mani SA, Donaher JL, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell*, 2004, 117(7): 927-39
- [10] Kang YB, Massagué J. Epithelial-mesenchymal transitions: twist in development and metastasis. *Cell*, 2004, 118(3): 277-9
- [11] Chua HL, Bhat-Nakshatri P, Clare SE, et al. NF- $\kappa$ B represses E-cadherin expression and enhances epithelial to mesenchymal transition of mammary epithelial cells: potential involvement of ZEB-1 and ZEB-2. *Oncogene*, 2007, 26(5): 711-24
- [12] Aigner K, Dampier B, Descovich L, et al. The transcription factor ZEB1 ( $\delta$ EF1) promotes tumour cell dedifferentiation by repressing master regulators of epithelial polarity. *Oncogene*, 2007, 26(49): 6979-88
- [13] Gaita S, Puig I, Franci C, et al. Snail induction of epithelial to mesenchymal transition in tumor cells is accompanied by MUC1 repression and ZEB1 expression. *J Biol Chem*, 2002, 277(42): 39209-16
- [14] del Barrio MG, Nieto MA. Overexpression of Snail family members highlights their ability to promote chick neural crest formation. *Development*, 2002, 129(7): 1583-93
- [15] Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(5): 593-601
- [16] Prasad CP, Mirza S, Sharma G, et al. Epigenetic alterations of CDH1 and APC genes: relationship with activation of Wnt/ $\beta$  catenin pathway in invasive ductal carcinoma of breast. *Life Sci*, 2008, 83(9-10): 318-25
- [17] Rojas A, Meherem S, Kim YH, et al. The aberrant methylation of TSP1 suppresses TGF- $\beta$ 1 activation in colorectal cancer. *Int J Cancer*, 2008, 123(1): 14-21
- [18] Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(36): 13556-61
- [19] Pon YL, Zhou HY, Cheng AN, et al. p70 S6 kinase promotes epithelial to mesenchymal transition through snail induction in ovarian cancer cells. *Cancer Res*, 2008, 68(16): 6524-32
- [20] Dasgupta P, Rizwani W, Cheng AN, et al. Nicotine induces cell proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition in a variety of human cancer cell lines. *Int J Cancer*, 2009, 124(1): 36-45
- [21] Hsu YM, Chen YF, Chou CY, et al. KCl cotransporter-3 down-regulates E-cadherin/ $\beta$ -catenin complex to promote epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res*, 2007, 67(22): 11064-73
- [22] Dhasarathy A, Kajita M, Wade PA. The transcription factor snail mediates epithelial to mesenchymal transitions by repression of estrogen receptor- $\alpha$ . *Mol Endocrinol*, 2007, 21(12): 2907-18
- [23] Shintani Y, Maeda M, Chaika N, et al. Collagen I promotes epithelial-to-mesenchymal transition in lung cancer cells via transforming growth factor- $\beta$  signaling. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 38(1): 95-104
- [24] Arima Y, Inoue Y, Shibata T, et al. Rb depletion results in deregulation of E-cadherin and induction of cellular phenotypic changes that are characteristic of the epithelial-to-mesenchymal transition. *Cancer Res*, 2008, 68(13): 5104-12
- [25] Yu J, Ebert MPA, Miehke S, et al.  $\alpha$ -catenin expression is decreased in human gastric cancers and in the gastric mucosa of first degree relatives. *Gut*, 2000, 46(5): 639-44
- [26] Park SM, Gaur AB, Lengyel E, et al. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes Dev*, 2008, 22(7): 894-907
- [27] Jung H, Lee KP, Park SJ, et al. TMRSS4 promotes invasion, migration and metastasis of human tumor cells by facilitating an epithelial-mesenchymal transition. *Oncogene*, 2008, 27(18): 2635-47
- [28] Subramanian G, Schwarz RE, Higgins L, et al. Targeting endogenous transforming growth factor- $\beta$  receptor signaling in SMAD4-deficient human pancreatic carcinoma cells inhibits their invasive phenotype. *Cancer Res*, 2004, 64(15): 5200-11
- [29] Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, et al. BMP-7 counteracts TGF- $\beta$ 1 induced epithelial to mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med*, 2003, 9(7): 964-8