

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.24.047

# 细胞上皮-间质转化发生的分子机制及临床意义\*

杜义江<sup>1,2</sup>综述,肖长义<sup>1,2△</sup>审校

(1. 三峡大学医学院组织学与胚胎学教研室,湖北宜昌 443002;2. 三峡大学第一临床医学院中心实验室,湖北宜昌 443003)

[关键词] 上皮细胞间质化;信号通路;微 RNAs;分子机制;临床应用

[中图分类号] R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)24-3439-03

上皮细胞间质化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是上皮细胞通过特定程序从黏附细胞形态向具有间质表型游离细胞形态转化,并获得侵入细胞外基质能力的一系列转化过程。这种后天获得运动能力的细胞在移行过程中可再次向上皮细胞或其他细胞类型转变,即间质细胞上皮化 (mesenchymal-epithelial transition, MET)。EMT 与 MET 的相互转化与肿瘤的发生、发展、转移关系密切<sup>[1-2]</sup>。目前,EMT 与肿瘤关系及其临床应用已成为研究热点。

## 1 EMT 在生理过程中的作用

**1.1 上皮细胞和间质细胞的特点** 根据上皮细胞和间质细胞在形态和功能上的不同,参与 EMT 过程的这两种类型细胞有以下特点:(1)上皮细胞由单层/多层立方细胞或柱状细胞有规律的排列,它们由细胞间黏附复合体紧密黏附在一起,其基底膜具有使上皮细胞与其他组织分离的特性,显示出顶端-基底极性。(2)间质细胞由于缺乏细胞间连接和极化作用,以个体细胞的形式存在于基质中<sup>[3]</sup>。

**1.2 EMT 的功能分型** EMT 过程根据不同的功能影响分为 3 种类型。I 型 EMT 与胚胎形成、器官发育相关,包括在胚胎发育时期原始的上皮细胞向移行的间充质细胞转变的过程。着床后第 1 次 EMT 发生在胚层分化清楚后的原肠胚,初级 EMT 分化产生不同的细胞类型,中胚层细胞沿着胚胎中轴线压缩形成不同的细胞。除脊索以外,所有来源于早期中胚层的胚胎结构都将通过连续的 EMT 和 MET 改变最后形成不同的器官和组织<sup>[1,4]</sup>。II 型 EMT 与创伤修复,组织再生和器官纤维化有关<sup>[5-6]</sup>。在创伤和炎症损伤刺激下,组织中成熟上皮或内皮细胞转化形成成纤维细胞及其他相关细胞,导致组织重构,这种 EMT 过程在刺激消失后终止<sup>[2,7]</sup>。III 型 EMT 与肿瘤形成及转移相关,发生转化的上皮癌细胞在基因(特别是与克隆产物相关的基因)和表观遗传学方面与正常上皮细胞不同,在局部肿瘤的发展过程中起重要作用,癌细胞向间质细胞表现转化而具有侵袭性并向肿瘤发展<sup>[5]</sup>。成人生理的 EMT 是一个形态学过程,特征是从上皮表型到间质特性的转变,细胞凋亡和替换比率与组织功能保持着平衡,从而维持内环境的稳态。上皮细胞保持着动态结构,在组织生长和分化过程中,有大量的分子机制保证其最后的完整性,伴随着 E-钙黏蛋白(E-cadherin)等上皮标志物及波形蛋白(vimentin)等间质性标志物的不同表达<sup>[8]</sup>。

## 2 EMT 发生的主要信号调控途径

在细胞水平,参与 EMT 生理和病理调节的效应分子及信号转导通路相类似,在上皮细胞向间质细胞重建的复杂过程

中,有许多诱导信号和转录因子及多个正反馈环路发生,刺激因素包括生长因子信号,肿瘤间质细胞相互作用和缺氧等,主要信号途径有转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )信号通路、Wnt 信号通路和 PI3K/AKT 信号通路等<sup>[9]</sup>。

EMT 一般通过不同的信号诱导上皮细胞转化,这些信号通常由正常组织和肿瘤组织的间质细胞释放。EMT 可以被细胞外基质成分和生长因子诱导,TGF- $\beta$  是比较重要的因子,调控着下游多个信号通路,通过  $\beta$ -整合素信号传导途径促进 smad 依赖的转录过程而发挥作用。TGF- $\beta$  可通过自分泌而作用于肿瘤细胞本身,也可通过旁分泌而调节细胞外基质,导致肿瘤细胞通过 EMT 而发生形态学改变,使侵袭和转移能力增强。Wnt 信号途径由 Wnt 蛋白、卷曲蛋白(frizzled, Fz)、APC 蛋白、糖原合成酶激酶 GSK3、Axin 蛋白、 $\beta$ -连接素(catenin)、T 细胞转录因子/淋巴增强因子(T cell transcription factor/lymphoid enhancer factor, TCF/LEF)家族组成,可激活下游靶基因,诱导 EMT 发生。PI3K/AKT 通路可下调 E-cadherin 和  $\beta$ -catenin,上调波形蛋白,发生 EMT。Hedgehog, Notch 等信号转导途径及整合素信号途径也可协调 EMT 程序<sup>[10]</sup>。分散因子/肝细胞生长因子(SF/HGF),成纤维细胞生长因子(FGF),表皮生长因子家族(EGFs)和胰岛素样生长因子 1 和 2(IGF-1、2)等均可通过相应信号途径促进 EMT 的发生<sup>[11]</sup>。

## 3 EMT 发生的机制及其相关标记物

癌细胞侵袭性是通过入侵和破坏基底膜而获得,并最终导致癌细胞转移传播。EMT 过程的活化是上皮癌细胞获得恶化的关键机制。发生在上皮癌细胞的 EMT 属 III 型 EMT,它们从遗传学和表观遗传学上与正常上皮细胞不同。在肿瘤微环境中癌细胞间能够相互作用,通过自分泌和/或旁分泌生长因子、细胞因子和细胞外基质蛋白等而诱导 EMT。在 EMT 表达下调的有 E-cadherin、紧密连接蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1) 细胞角蛋白、IV 型胶原蛋白、层板蛋白 1(laminin 1) 等,上调的有 N-钙黏蛋白、成纤维细胞特异性蛋白 1(fibroblast specific protein1, FSP-1)、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)、细胞间丝波形蛋白、 $\beta$ -catenin 等。这些癌细胞具有特定的基因突变以启动和维持 EMT 程序<sup>[12]</sup>。

癌细胞中激活的 EMT 程序中有许多功能步骤,与发育和生理过程中的 EMT 过程相同。在上皮癌中 EMT 导致细胞膜钙黏蛋白从 E-cadherin 到 N-钙黏蛋白转换,E-cadherin 表达的下调或者缺失是 EMT 典型特征,导致上皮肿瘤细胞侵袭和转移<sup>[5]</sup>。EMT 与其转录因子特别是 Snail, Slug, zinc finger E-box binding homeobox 1 and 2 (ZEB1 and 2), Twist, Goosec-

\* 基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(2011CDC002)。 作者简介:杜义江(1974-),在读硕士,主要从事 HPV 与肿瘤研究。 △

oid and FOX2 等表达水平和功能相关,Smad 与 DNA 结合后可诱导对 TGF- $\beta$  信号的转录应答,与  $\beta$ -catenin/LEF-1 信号通路共同维持上皮间质转化后间叶表型。Wnt 信号异常激活后使游离的  $\beta$ -catenin 累积,并形成  $\beta$ -catenin/LEF-1 复合物,该复合物进入细胞核后调控靶基因转录,诱导 EMT 发生。Snail, Slug 和 Twist 与 E-cadherin 的启动子 E-box 结合,抑制 E-cadherin 表达,引起 EMT 发生<sup>[5-6]</sup>。这些标记物在细胞发生 EMT 转变时出现,但其水平并不与参与 EMT 过程的上皮细胞的阶段相一致。

用生长因子如 TGF- $\beta$ , HGF, 表皮生长因子受体(EGFR) 和 IGF 等可诱导体外乳腺癌细胞株发生 EMT。这些细胞 Twist 和 Snail 的异位表达使间质细胞表型和干细胞标记物增加而诱导 EMT,使乳腺癌干细胞获得侵袭和转移能力。Weng 等<sup>[13]</sup>证明在乳腺癌小鼠癌症转移与 EMT 相关,发生 EMT 的乳腺细胞经 FSP1/S100A4 启动子激活获得转移能力,并在体内可被检测出。在基质特异和上皮特异的转基因小鼠体内肿瘤发展过程中可直接显示 EMT。用 3 只不同癌基因控制的小鼠乳腺癌模型和细胞原基分布图方法,可证明体内乳腺癌中 EMT 存在及 myc 在这一过程中的作用。在视网膜母细胞瘤、骨肉瘤、小细胞肺癌、结肠癌、前列腺癌、膀胱癌和乳房癌中成视网膜细胞瘤肿瘤抑制蛋白(Rb)缺失或低水平表达,这在乳腺癌中更常见,诱导 EMT 部分依赖 E-cadherin 的减少,使乳腺癌转移增强。相应的,增加 Rb 可抑制 EMT<sup>[14]</sup>。在肿瘤-基质分界面和侵袭性乳腺癌中也有 Snail1 的表达。而 Snail2 的表达与肿瘤渗出、转移和复发有关。对乳腺癌模型的研究表明 EMT 不是单一的肿瘤类型,而是源于多种机制的多种表型<sup>[15]</sup>。

研究表明 EMT 途径的活化与组织学分级有关,相对于低级别肿瘤,参与 EMT 的基因上调与低分化癌相关, Twist 的高表达与高级别侵袭性肿瘤相关。相对于其他类型的侵袭性乳腺癌,基底样肿瘤其间质细胞标记物(波形蛋白, N-钙黏蛋白, 钙黏蛋白-11)高表达, E-cadherin 低表达的更易远端转移,预后差<sup>[16]</sup>。临床上可通过找到 EMT 特定的基因特征鉴定 EMT, 帮助诊断并预测肿瘤患者的预后。

#### 4 miRNA 对 EMT 的调控及临床意义

miRNA 参与肿瘤细胞表型转化的发生与调节,其异常表达与 EMT 相关:微阵列分析表明 EMT 过程中的细胞 miR-200 家族和 miR-205 表达下调,调节特定抑制蛋白 ZEB1 和 ZEB2,从而抑制 E-cadherin 表达,引起 EMT 发生<sup>[17]</sup>。ZEB 和 miR-200 家族成员不仅有相反的功能,而且相互调节对方的表达,形成了一组因素的激活强烈影响另一组的表达的双负反馈环路,促进 miR-200 家族和 ZEB 分别维持 EMT 和 MET 转化<sup>[18]</sup>。在 EMT 与 MET 转化过程中, CDH1 是至关重要的基因, miRNA 可直接靶向 CDH1,也可直接调控相关转录因子而间接作用于 CDH1,从而决定 EMT/MET 转换。miR-9、miR-23a 和 miR-25 均可直接靶向 CDH1 而引起 EMT 的发生,分别促进乳腺癌、肺癌和食管鳞状细胞癌的转移<sup>[19]</sup>。miR-138 可靶向波形蛋白和 ZEB2 等基因,降低 Snail 和 HDAC1/2 的表达,进而间接抑制 CDH1 的表达,诱发鼻咽癌 EMT<sup>[20]</sup>。TGF- $\beta$ 、Twist1、E47、Snail1 和 Snail2 等可与 CDH1 的启动子 E-box 结合而抑制其表达,促进肿瘤的转移<sup>[21]</sup>。

Ma 等<sup>[22]</sup>发现与人乳腺上皮细胞或自然永生细胞 MCF-10A 相比,转移乳腺癌细胞株中 miR-10b 上调,在乳腺癌移植瘤模型中其高表达可诱导侵袭和转移。在恶性乳腺癌和乳腺癌细胞株中 miR-21, miR-9 和 miR-155 呈现高表达<sup>[23]</sup>。与乳

腺导管癌相比,基底部和化生的乳腺癌中 miR-200 水平下调,使其具有高侵袭性。原发性和相应的转移癌相比较,在原发癌中 miR-10b, miR-21 和 miR-155 水平较低而 miR-200 水平较高,提示可通过操纵这些 EMT 相关 miRNA 来控制转移过程<sup>[24]</sup>。miR-200 家族可成为肿瘤治疗的潜在靶点。在人乳腺癌中, miR-103/107 在体外可增加癌细胞迁移能力,在体内可参与转移传播,高水平的 miR-103/107 与转移和不良预后有关, miR-103/107 还可通过下调 miR-200 水平诱导 EMT<sup>[25]</sup>。因此,临床上可以通过了解癌细胞 EMT 状态和 miRNA 的表达情况来预测其侵袭和转移能力,判断患者的预后。针对参与 EMT 过程中的蛋白和 miRNA 这些潜在靶点,可开发特异性治疗方案,从而防止肿瘤侵袭、转移、复发和耐药。

#### 5 结语与展望

EMT 改变在生理和病理方面扮演了重要角色,尤其在肿瘤迁移和侵袭过程, EMT 是肿瘤转化瀑布中重要的一步。EMT 和 MET 转换在肿瘤细胞可塑性调控机制中起到了非常关键的作用,对于肿瘤转移复发和肿瘤细胞的治疗耐受现象也有重要作用。随着研究的深入 EMT 的调控机制已经取得了一些进展,但其确切的调控机制还有待进一步研究证实。

#### 参考文献

- [1] Foroni C, Brogini M, Generali D, et al. Epithelial-mesenchymal transition and breast cancer: role, molecular mechanisms and clinical impact[J]. *Cancer Treat Rev*, 2012, 38(6):689-697.
- [2] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-Mesenchymal transitions in development and disease[J]. *Cell*, 2009, 139(5):871-890.
- [3] Thiery JP, Chua K, Sim WJ, et al. Epithelial mesenchymal transition during development in fibrosis and in the progression of carcinoma[J]. *Bull Cancer*, 2010, 97(11):1285-1295.
- [4] Tanimizu N, Miyajima A. Molecular mechanism of liver development and regeneration[J]. *Int Rev Cytol*, 2007, 259(1):1-48.
- [5] Steinestel K, Eder S, Schrader AJ, et al. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Clin Transl Med*, 2014, 3:17.
- [6] Hong M, Lin KX, Hong Z, et al. Identification of biomarkers for hepatocellular carcinoma by semiquantitative immunocytochemistry[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(19):5826-5838.
- [7] Schindeler A, Kolind M, Little DG. Cellular transitions and tissue engineering[J]. *Cell Reprogram*, 2013, 15(2):101-106.
- [8] Kumar A, Gao H, Xu J, et al. Evidence that aberrant expression of tissue transglutaminase promotes stem cell characteristics in mammary epithelial cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6):e20701.
- [9] Kim YS, Yi BR, Kim NH, et al. Role of the epithelial-mesenchymal transition and its effects on embryonic stem cells[J]. *Exp Mol Med*, 2014, 46:e108.
- [10] Umar S. Enteric pathogens and cellular transformation: bridging the gaps[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(16):6573-6575.

- [11] Roussos ET, Keckesova Z, haley JD, et al. AACR special conference on epithelial-mesenchymal transition and cancer progression and treatment [J]. *Cancer Res*, 2010, 70 (19):7360-7364.
- [12] Iwatsuki M, Mimori K, Yokobori T, et al. Epithelial-mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(2):293-299.
- [13] Weng DS, Penzner JH, Song BZ, et al. Metastasis is an early event in mouse mammary carcinomas and is associated with cells bearing stem cell markers [J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(1):R18.
- [14] Taylor MD, Liu Y, Nagji AS, et al. Combined proteasome and histone deacetylase inhibition attenuates epithelial-mesenchymal transition through E-cadherin in esophageal cancer cells [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2010, 139(5):1224-1232.
- [15] Cardiff RD. The pathology of EMT in mouse mammary tumorigenesis [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2010, 15(2):225-233.
- [16] Tomaskovic-Crook E, Thompson EW, Thiery JP. Epithelial to mesenchymal transition and breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2009, 11(6):213.
- [17] Wright JA, Richer JK, Gj G. MicroRNAs and EMT in mammary cells and breast cancer [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2010, 15(2):213-223.
- [18] Brabletz S, Bajdak K, Meidhof S, et al. The ZEB1/miR-200 feedback loop controls Notch signalling in cancer cells [J]. *EMBO J*, 2011, 30(4):770-782.
- [19] Xu X, Chen Z, Zhao X, et al. MicroRNA-25 promotes cell migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 421(4):640-645.
- [20] Tong ZT, Cai MY, Wang XG, et al. EZH2 supports nasopharyngeal carcinoma cell aggressiveness by forming a co-repressor complex with HDAC1/HDAC2 and Snail to inhibit E-cadherin [J]. *Oncogene*, 2012, 31(5):583-594.
- [21] Cong NN, Du P, Zhang AL, et al. Downregulated microRNA-200a promotes EMT and tumor growth through the Wnt/beta-catenin pathway by targeting the E-cadherin repressors ZEB1/ZEB2 in gastric adenocarcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(4):1579-1587.
- [22] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer [J]. *Nature*, 2007, 449(7163):682-688.
- [23] Hui AB, Shi W, Boutros PC, et al. Robust global microRNA profiling with formalin-fixed paraffin-embedded breast cancer tissues [J]. *Lab Invest*, 2009, 89(5):597-606.
- [24] Haller F, Von Heydebreck A, Zhang JD, et al. Localization and mutation-dependent microRNA (miRNA) expression signatures in gastrointestinal stromal tumours (GISTs), with a cluster of co-expressed miRNAs located at 14q32.31 [J]. *J Pathol*, 2010, 220(1):71-86.
- [25] Martello G, Rosato A, Ferrari F, et al. A MicroRNA targeting dicer for metastasis control [J]. *Cell*, 2010, 141(7):1195-1207.

(收稿日期:2015-02-15 修回日期:2015-08-07)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.24.048

## 微泡及其与动脉粥样硬化发生的关系研究进展\*

陈 乔, 杨小利, 张 骏, 王红勇<sup>△</sup>

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所心内科 400042)

[关键词] 微泡; 动脉粥样硬化; 载体

[中图分类号] R543.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)24-3441-04

微泡(microvesicle, MV)是近些年来发现的一类机体体内由正常或异常细胞分泌至周围组织液或释放到外周血循环中的微小囊泡状结构的统称。目前的研究认为 MV 的直径通常为 30~1 000 nm, 根据其直径大小可以分为外泌小体(exosome, 直径 30~100 nm)和微粒(microparticle, 直径 100~1 000 nm)等<sup>[1]</sup>。MV 是细胞在生理(如凋亡信号)或病理(如炎症因子)刺激后形成的一种亚细胞结构<sup>[2]</sup>。大量研究都聚焦于囊泡的特点和生物学功能研究, 并已证明内皮细胞、造血细胞、B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、树突状细胞、上皮细胞、成纤维细胞、肥大细胞、基质细胞、胎盘滋养细胞和多种肿瘤细胞均可以分泌 MV, 但不同种类的细胞所形成的 MV 在生成方式、直径大小和内容物方面均存在着差异<sup>[3]</sup>。MV 表面有脂质磷脂双分子层结

构, 其中镶嵌有多种表面蛋白(如受体、抗原等), 其内则包裹着众多蛋白质、mRNA、DNA 和 microRNA<sup>[4]</sup>。MV 可以利用其表面的分子与目的细胞识别, 并与细胞黏附、融合, 故可以在细胞之间发挥交换微量物质和传递生物学信号的作用, 从而对目的细胞的活性和功能进行调节<sup>[5]</sup>。MV 参与细胞的癌变并与癌细胞的转移密切相关, 已成为近年来肿瘤学研究的一个热点。另外, 在心血管疾病的发生和病理生理学进程方面的研究也发现, MV 与高血压、动脉粥样硬化等疾病的发病过程也存在密切联系<sup>[6]</sup>。本文着重对细胞分泌的 MV 的形成特点、内容物成分、生物学功能及其在动脉粥样硬化中的作用进行综述。

### 1 MV 的形成和分泌机制

细胞既可以在自发状态下, 也可以在受到刺激因子激活后

\* 基金项目:重庆市自然科学基金重点项目(CSTC2011jjB10020)。

作者简介:陈乔(1971—), 主治医师, 本科, 主要从事冠心病研究。

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: whysir@aliyun.com。