

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.01357

• 综述 •

上皮间质转化与肿瘤干细胞在肿瘤转移中的作用

印凡, 徐霞, 赵东宝*

第二军医大学长海医院风湿免疫科, 上海 200433

[摘要] 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的主要特征是上皮表型的缺失及间质特性的获得。EMT在胚胎发育、创伤愈合及组织重建等生理过程中发挥重要作用,也参与组织纤维化及恶性肿瘤发生发展等病理过程。EMT在促使肿瘤细胞侵袭并转移至远端组织的同时,也使得转移的肿瘤细胞具有自我更新能力等干细胞样特性,有助于形成肿瘤宏观转移灶并产生多重耐药性。多种转录因子、信号转导通路、microRNAs及细胞微环境等参与并调控此过程。阐明EMT与肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)在肿瘤转移中的作用机制,将为肿瘤转移与复发的靶向治疗提供新思路。

[关键词] 肿瘤; 上皮间质转化; 肿瘤干细胞; 肿瘤转移

[中图分类号] R 730.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)12-1357-04

Epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells in tumor metastasis

YIN Fan, XU Xia, ZHAO Dong-bao*

Department of Rheumatology and Immunology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] The epithelial-mesenchymal transition (EMT) is characterized by absence of epithelial phenotype and acquiring of mesenchymal properties. EMT participates not only in normal embryonic development, wound healing and tissue reconstruction, but also in various pathologic processes, including fibrosis and carcinogenesis. EMT can facilitate the invasion and metastasis of cancer cells to distant tissues, and confer the metastatic cancer cells self-renewal ability of stem cells, contributing to macroscopical metastasis formation and multiple resistance to treatment. Recent studies have revealed that several transcription factors, signaling pathways, microRNAs and microenvironment components are involved in this process. Here we summarize the recent progress on the roles of EMT and cancer stem cells in tumor metastasis, hoping to provide new insights in target therapy of tumor metastasis and recurrence.

[Key words] neoplasms; epithelial-mesenchymal transitions; cancer stem cells; metastasis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(12):1357-1360]

近年来,肿瘤综合治疗的理念逐渐普及,然而肿瘤复发及远处转移仍是导致约90%肿瘤患者治疗失败及死亡的最主要原因^[1]。肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是肿瘤转移和复发的重要因素,最近的研究表明肿瘤细胞可能通过上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)转变为CSCs。因此,针对EMT及CSCs的治疗将有望降低肿瘤的复发和转移,提高肿瘤患者的生存时间。

1 EMT的发生与肿瘤转移

EMT是具有极性的上皮细胞转化为具有移行能力的间质细胞并获得侵袭和迁移能力的过程。Greenburg等^[2]在1982年发现晶状体上皮细胞可在三维胶原凝胶培养中形成伪足,并转化为间质细胞样形态,首次提出了EMT这一概念。EMT是一个多步骤的动态变化过程,上皮细胞间相互

作用消失,组织结构松散,立方上皮细胞转变为纺锤形纤维细胞形态,并表现出侵袭性^[3]。实体肿瘤中央的细胞为上皮细胞表型,周围的细胞常常会呈间质细胞表型,其较强的运动能力使肿瘤细胞在局部产生浸润,并侵入血和淋巴管而转移至靶器官。到达靶器官后,癌细胞可发生间质上皮转化(mesenchymal-epithelial transitions, MET)来重建细胞间连接及细胞骨架从而形成转移灶。

EMT的发生由肿瘤微环境中的间质细胞(间充质干细胞、巨噬细胞、成纤维细胞等)释放相关信号激活EMT-转录因子而触发。常见的胞外信号包括细胞外基质组分和生长因子,如转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)、表皮生长因子(epithelial growth factor, EGF)和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)等^[4]。参与EMT的转录因子包括Snail、Slug、Twist、ZEB1和ZEB2(SIP1)以

[收稿日期] 2011-05-13 **[接受日期]** 2011-10-10

[基金项目] 第二军医大学创新能力培养计划基金(MS2010099)。Supported by Undergraduate Innovation Ability Fund of Second Military Medical University (MS2010099)。

[作者简介] 印凡,第二军医大学临床医学八年制2004级学员。E-mail: ying2124@sina.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81873314, E-mail: zhaodongbao@medmail.com.cn

及 FOXC2 等。这些因子的相互作用最终导致 EMT, 从而促进肿瘤转移。发生 EMT 的细胞中 E-钙黏蛋白(E-cadherin)等细胞黏附分子表达下调, 而波形蛋白(vimentin)、纤连蛋白(fibronectin)等间质蛋白表达上调。E-cadherin 的变化是 EMT 的主要控制者, 该蛋白表达的下调是 EMT 发生的重要标志。

2 CSCs 在肿瘤转移中的作用

白血病、乳腺癌、卵巢癌、黑色素瘤、肺癌及前列腺癌等多种肿瘤中均存在 CSCs。2006 年美国癌症研究协会(American Association for Cancer Research, AACR)将肿瘤干细胞定义为“存在于肿瘤组织中的具有无限自我更新能力, 同时产生不同分化程度肿瘤细胞的细胞”^[5]。CSCs 在肿瘤中含量低, 可能来源于基因累积突变和(或)表型改变的正常干细胞、发生致癌突变的祖细胞或者去分化的成熟细胞^[6]。目前研究认为肿瘤干细胞如同正常干细胞一样, 主要特征包括无限的自我更新能力及分化潜能。肿瘤干细胞在自我更新时完成自我复制, 同时也能不同程度地分化为子代肿瘤细胞, 产生肿瘤的异质性。CSCs 还具高端粒酶活性, 高致瘤性, 对放、化疗不敏感等特性, 是肿瘤复发与转移的原因之一^[7]。

CSCs 不仅与肿瘤的复发关系密切, 也与恶性肿瘤的侵袭性密切相关, 影响肿瘤患者的病情进展及预后。当肿瘤逐渐增大时, 大量的肿瘤细胞从原发瘤处进入循环, 并最终到达转移处, 然而只有几乎 0.02% 的细胞能形成临床上明显的转移灶^[8]。“种籽与土壤”学说认为, 转移高发组织提供适宜癌细胞增殖的微环境即“土壤”, 转移至此处的癌细胞“种籽”经过筛选和选择, 最适宜生存的癌细胞便继发形成肿瘤^[9]。CSCs 具有干细胞样无限增殖及天然的抗凋亡能力, 进入转移靶器官后很有可能成为“种籽”选手。

Liu 等^[10]比较 CD44^{high}/CD24^{-/low} 乳腺癌干细胞与正常乳腺上皮细胞的基因表达谱, 发现了 186 个侵袭相关基因的差异表达, 这些基因均与总体生存率及无转移生存率显著相关。此外, 在早期乳腺癌患者的骨髓里发现了 CD44⁺/CD24^{-/low} 细胞, 而骨髓中播散的肿瘤细胞约 72% 为 CSCs, 提示 CD44^{high}/CD24^{-/low} 表型的乳腺癌干细胞在骨髓中具有生存优势, 并可促进早期转移^[11]。Yang 等^[12]采用流式细胞技术分析了肝癌患者的外周血样本, 发现 91.6% 的血样中可以检出 CD45⁻CD44⁺CD90⁺ 表型的 CSCs, 将此类 CSCs 纯化后移植至免疫缺陷小鼠, 证实其具有显著的致瘤及转移能力。Nishii 等^[13]发现胃癌 CSCs 与普通肿瘤细胞相比, α 2-、 α 5-、 β 3-、 β 5-整合素和 CD44 等黏附分子表达更高, 也更容易形成腹膜转移。Hermann 等^[14]研究胰腺癌发现, CXCR4⁺/CD133⁺ CSCs 是肿瘤转移的必要条件。

3 EMT 与肿瘤干细胞联合促肿瘤进展

EMT 的概念和 CSCs 模型试图从不同的角度来揭示肿瘤的进展, 但两者都不能独立地解释所有生物学事件。Brabletz 等^[15]在研究人结肠直肠癌模型时发现, 在肿瘤侵袭宿主的边缘, 发生 EMT 的肿瘤细胞大多具有干细胞样特性, 由此提出一个整合的模型。该模型认为位于肿瘤宿主边缘、

具有干细胞特性并通过 EMT 获得转移能力的肿瘤细胞为转移肿瘤干细胞(mobile cancer stem cells, mCSCs); 始终存在于肿瘤分化的区域, 维持原发瘤的生长, 并能衍生出 mCSCs 的肿瘤细胞为原位肿瘤干细胞(stationary cancer stem cells, sCSCs)。

Mani 等^[16]发现 EMT 能产生具有干细胞特性的细胞群。永生化乳腺上皮细胞(human mammary epithelial cells, HMLEs)中过表达 Twist 和 Snail 后发生 EMT, 悬浮培养时成球能力可增加 30~40 倍, 这提示它们已具有乳腺上皮干细胞特性。将 HER2/neu⁻ 或 Ras 导入 HMLEs(即 HMLER 或 HMLER 细胞)并诱导 EMT 发生后能增加肿瘤起始细胞的数量。此外, 大鼠和人的正常组织干细胞及乳腺肿瘤干细胞均表达 EMT 相关的分子标志。对乳腺癌标本进行基因表达分析发现, 与 CD44^{low}CD24^{high} 细胞相比, CD44^{high}/CD24^{low} 细胞的 E-cadherin 的表达水平下降, N-钙黏蛋白(N-cadherin)及 fibronectin 表达增加, Twist、Snail、ZEB2 和 FOXC2 等诱导 EMT 发生的转录因子显著上调。从原发性结直肠癌组织中分离出高表达 CD44 和 CD166 的肿瘤干细胞, 它们具有放化疗抗性, 致瘤能力增加, 同时 Snail 表达增加并激活 EMT 发生^[17]。

这些发现提示诱导 EMT 能促使肿瘤细胞获得干细胞特性, 诱导分化的肿瘤细胞形成肿瘤干细胞并维持干性, 而肿瘤干细胞同样具有 EMT 特征。多种蛋白分子、microRNAs 及微环境等参与此过程, 涉及多个信号转导通路和复杂的分子机制。

3.1 重要信号通路 TGF- β 是 EMT 发生的主要诱导因子, 可通过 Smad 依赖通路、Smad 非依赖通路及 MAPK 途径来诱导 EMT 的产生。在 Smad 依赖通路中, 乳腺上皮细胞过度表达 Smad2 和 Smad3 后可触发 EMT。TGF- β 与受体结合后可磷酸化 R-Smad 蛋白, 磷酸化的 R-Smads 与 Smad4 形成源复合物入核, 促进 EMT 相关的靶基因的转录。在非依赖 Smad 途径中, TGFBR2 (transforming growth factor beta receptor II) 可直接磷酸化细胞极性蛋白 Par6 来促进细胞连接复合物的松解。TGF- β 在肿瘤形成方面具有双重作用^[18], 在肿瘤早期通过促进细胞凋亡抑制肿瘤生长, 而晚期则通过诱导 EMT 和细胞迁移来促进肿瘤转移。在乳腺癌细胞移植模型中, 下调 Smad2 和 Smad3 可阻断 TGF- β 诱导的 EMT 发生并降低转移相关。TGFBR2 在 CD44⁺ 乳腺癌细胞表达后可特异性激活 TGF- β 通路, 在 CD24⁺ 细胞中 TGFBR2 经翻译后修饰而丧失激活作用。TGFBR 抑制剂可特异性诱导 CD44⁺ 癌细胞经历间质上皮细胞转化^[19]。HMLEs 中分离的 CD44^{high}CD24^{low} 细胞表现出间质细胞形态, N-cadherin 及 vimentin 等表达增多。TGF- β 处理 HMLER 后可激活 Ras/MAPK 信号通路, 加速非致瘤性 CD44^{low}CD24⁺ 细胞向 CD44⁺CD24^{-/low} 细胞转化。在 MCF-10A 细胞中, 敲除 Akt1 可促进 TGF- β 诱导的 EMT 和干细胞样表型的形成^[20]。TGF- β 和 LIF 可诱导从患者神经胶质瘤组织中分离出的胶质瘤干细胞(glioma initiating cells, GICs)产生自我更新能力, 并阻止其分化^[21]。

Wnt/ β -catenin 通路在经 EMT 产生并维持 CSCs 干性中

也发挥重要作用,抑制 Wnt 通路后可促进上皮分化并抑制 Twist 和 Slug 所致的 EMT,而多数 β -catenin 靶基因可促进干性特征的形成。慢性粒细胞性白血病急变期, β -catenin 突变可以赋予粒细胞-巨噬细胞前体细胞以自我更新的特性。皮肤癌中 β -catenin 基因缺失将导致 CSCs 的丧失和肿瘤消退。Hedgehog 信号通路在肿瘤发生及干性维持中有重要作用。Hh-Gli 可强烈诱导 EMT 发生,而体内结肠癌 CSCs 自我更新同样与 Hh-Gli 活性密切相关^[22]。不同分期的结肠癌中分离得到的 CSCs 均高表达 Hh-Gli,并与转移的发生一致。结肠癌移植瘤在裸鼠体内的生长、复发和转移需要 Hh-Gli 的激活。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 CD133⁺ 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,化疗抗性及其 EMT 的发生也与 Notch 通路激活有关^[23]。

3.2 转录因子 由 CDH1 编码的 E-cadherin 是维持上皮表型的主要分子,其缺失是 EMT 发生的重要标志。Snail、Slug、Twist、ZEB1、ZEB2、FOXC2 及 Lbx1 等转录抑制子可直接或间接抑制 CDH1 启动子并启动 EMT。

Snail 和 Slug 同为锌指蛋白 Snail 超家族的成员,两者同为卵巢癌细胞获得肿瘤干细胞特性的关键分子^[24],其上调可促进细胞存活及抵抗放疗。Slug 在体内能保护造血祖细胞免受放疗所引起的凋亡。对人类乳腺癌的微阵列分析提示,预后较差的早期乳腺癌患者的癌细胞往往表达高水平的 Snail^[25]。在侵袭性乳腺癌的上皮和内皮细胞中均发现有 Snail 的过表达。GSK3 β 是 Snail 的内源性抑制剂,FGF 依赖的 PI3-K/Akt 通路可下调 GSK3 β 的表达,从而激活 Snail-EMT 信号瀑。Snail 与 E3/E4 E 盒结合后可激活 IL-8 的表达,而降低 IL-8 的表达活性可阻断 Snail 诱导的干细胞特性^[17]。Twist 蛋白是高度保守的碱性螺旋-环-螺旋转录因子,在胚胎和肿瘤的发生中有重要作用。HMLER 细胞中过表达 Twist 可扩大干性样细胞池,增加成球能力和体内致瘤能力^[18]。Twist 还可下调 CD24 的表达来诱导乳腺 CSCs 表型产生。Twist 的过度表达是弥漫性胃癌发生 EMT 的重要因素^[26]。用 RNAi 沉默高转移肿瘤细胞的 Twist 基因,能显著降低乳腺癌细胞的肺转移^[27]。作为 ZEB 家族的两大成员,ZEB1 和 ZEB2 是 EMT 的重要调节分子,同时参与维持 CSCs 的耐药性和干性。ZEB1 可促进肿瘤的生成,并抑制相关的干性抑制性 miRNAs 来激活 EMT 发生及维持 CSCs 的干性^[28]。由 Twist、TGF- β 或 Lbx1 经 EMT 诱导产生的 CSCs 中 ZEB2 高表达。

FOXC2 在基底细胞乳腺癌中高表达,并能赋予上皮细胞干性特征^[18]。Lbx1 (Ladybird homeobox 1) 在正常肌肉发生及神经元分化中起着调节同源异型框转录因子的作用。Lbx1 诱发 EMT 促进细胞迁移,并扩大 CD44⁺/CD24⁻ 细胞数量从而促进乳腺癌的进展^[29]。Lbx1 在预后不良的 ER/PR/HER2 三阴基底细胞样乳腺癌中高表达。Lbx1 还可促使肿瘤干细胞发生 EMT 并过表达 ZEB1。YB-1 (Y-box binding protein-1) 是冷休克结构域 (cold-shock domain, CSD)

蛋白超家族成员之一,在转录和翻译等水平调节基因表达,参与多种生命活动及肿瘤产生。YB-1 在约 75% 的人类乳腺癌细胞中高表达。YB-1 的过表达可使得 MCF-10A 细胞获得各种干细胞特性^[30]。Six1 在促进小鼠乳腺干细胞/前体细胞增殖的同时,诱发 EMT 并产生乳腺肿瘤^[31]。

3.3 microRNAs miRNAs 可调控多种肿瘤的发生及进展。最近有研究表明 miRNAs 可调节 Twist、Snail、ZEB1 和 ZEB2 等 EMT 相关的转录因子,被视为新的 EMT 调控分子家族。miR-200 家族包括 miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141 和 miR-429,它们被视为重要的上皮细胞标志及强有力的 EMT 调控分子^[32]。它们可直接作用于 ZEB1 及 SIP1 mRNA,促进癌细胞中 E-cadherin 表达从而抑制 EMT 发生,降低肿瘤侵袭性。在发生 EMT 的细胞中 microRNA-200 表达明显下降,侵袭程度高的乳腺癌细胞普遍存在 microRNA-200 的缺失现象。Let-7、miR-335、miR-205、miR-206、miR-126、miR-146a 和 miR-101 也能抑制肿瘤转移,肿瘤中 let-7 的表达往往被抑制^[33]。而 miR-155、miR-10b、miR-21、miR-373 及 miR-520c 通过调节 EMT 促进肿瘤侵袭及转移^[34]。miRNAs 还可调节 CSCs 的干性^[35]。H-Ras 和 HMGA2 可调节乳腺 CSCs 的自我更新和分化,let-7 可沉默两者的表达从而抑制乳腺 CSCs 的干性及肿瘤发生。体外实验表明,乳腺 CSCs 中过表达 let-7 可降低其增殖及成球能力,裸鼠成瘤及肿瘤转移能力也明显降低。miR-200c 在人乳腺 CSCs 及非致瘤癌细胞中存在差异性表达。miR-200c 可作用于 Bmi,也可作用于 Sox2 和 KLF4 等干性因子^[36]。miR-200c 和 miR-203 是干性抑制家族的 miRNAs,ZEB1 在促进 EMT 发生的同时还直接作用于两者从而维持 CSCs 的干性^[28]。

4 结 语

肿瘤的发生发展是一个复杂的生物学过程,转移是导致恶性肿瘤患者死亡的重要原因。转移的肿瘤干细胞理论为肿瘤研究提供了新的视角。肿瘤中 EMT 的发生及肿瘤干细胞的调控机制是近年来肿瘤学研究领域的热点,目前仍存在许多问题亟待解决,如寻找更精确的 EMT 标志物,进一步完善 CSCs 学说,建立更好的模型观察 EMT 及 CSCs 的发生等。随着研究的不断深入,针对 EMT 与 CSCs 相互作用机制寻找新药靶点有望为抗肿瘤治疗开辟新途径。

[参 考 文 献]

- [1] Weigelt B, Peterse J L, van't Veer L J. Breast cancer metastasis: markers and models[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5: 591-602.
- [2] Greenburg G, Hay E D. Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells[J]. J Cell Biol, 1982, 95: 333-339.
- [3] Gavert N, Ben-Ze'ev A. Epithelial-mesenchymal transition and the invasive potential of tumors[J]. Trends Mol Med, 2008, 14: 199-209.
- [4] Voulgari A, Pintzas A. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: mechanisms, markers and strategies to overcome drug resistance in the clinic[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1796: 75-90.
- [5] Clarke M F, Dick J E, Dirks P B, Eaves C J, Jamieson C H,

- Jones D L, et al. Cancer stem cells—perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 9339-9344.
- [6] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. *Cell*, 2006, 126: 663-676.
- [7] Baumann M, Krause M, Hill R. Exploring the role of cancer stem cells in radioresistance[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8: 545-554.
- [8] Luzzi K J, MacDonald I C, Schmidt E E, Kerkvliet N, Morris V L, Chambers A F, et al. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases[J]. *Am J Pathol*, 1998, 153: 865-873.
- [9] Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1989, 8: 98-101.
- [10] Liu R, Wang X, Chen G Y, Dalerba P, Gurney A, Hoey T, et al. The prognostic role of a gene signature from tumorigenic breast-cancer cells[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356: 217-226.
- [11] Balic M, Lin H, Young L, Hawes D, Giuliano A, McNamara G, et al. Most early disseminated cancer cells detected in bone marrow of breast cancer patients have a putative breast cancer stem cell phenotype[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 5615-5621.
- [12] Yang Z F, Ngai P, Ho D W, Yu W C, Ng M N, Lau C K, et al. Identification of local and circulating cancer stem cells in human liver cancer[J]. *Hepatology*, 2008, 47: 919-928.
- [13] Nishii T, Yashiro M, Shinto O, Sawada T, Ohira M, Hirakawa K. Cancer stem cell-like SP cells have a high adhesion ability to the peritoneum in gastric carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100: 1397-1402.
- [14] Hermann P C, Huber S L, Herrler T, Aicher A, Ellwart J W, Guba M, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer[J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1: 313-323.
- [15] Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F, Kirchner T. Opinion: migrating cancer stem cells—an integrated concept of malignant tumour progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5: 744-749.
- [16] Mani S A, Guo W, Liao M J, Eaton E N, Ayyanan A, Zhou A Y, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. *Cell*, 2008, 133: 704-715.
- [17] Hwang W L, Yang M H, Tsai M L, Lan H Y, Su S H, Chang S C, et al. SNAIL regulates interleukin-8 expression, stem cell-like activity, and tumorigenicity of human colorectal carcinoma cells [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141: 279-291.
- [18] Massagué J. TGF beta in cancer[J]. *Cell*, 2008, 134: 215-230.
- [19] Shipitsin M, Campbell L L, Argani P, Weremowicz S, Bloushtain-Qimron N, Yao J, et al. Molecular definition of breast tumor heterogeneity[J]. *Cancer Cell*, 2007, 11: 259-273.
- [20] Iliopoulos D, Polytarchou C, Hatzia Apostolou M, Kottakis F, Maroulakou I G, Struhl K, et al. MicroRNAs differentially regulated by Akt isoforms control EMT and stem cell renewal in cancer cells[J]. *Sci Signal*, 2009, 2: ra62.
- [21] Peñuelas S, Anido J, Prieto-Sánchez R M, Folch G, Barba I, Cuartas I, et al. TGF-beta increases glioma-initiating cell self-renewal through the induction of LIF in human glioblastoma[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15: 315-327.
- [22] Varnat F, Duquet A, Malerba M, Zbinden M, Mas C, Gervaz P, et al. Human colon cancer epithelial cells harbour active HEDGEHOG-GLI signalling that is essential for tumour growth, recurrence, metastasis and stem cell survival and expansion[J]. *EMBO Mol Med*, 2009, 1(6-7): 338-351.
- [23] Wang Z, Li Y, Kong D, Banerjee S, Ahmad A, Azmi A S, et al. Acquisition of epithelial-mesenchymal transition phenotype of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells is linked with activation of the notch signaling pathway[J]. *Cancer Res*, 2009, 69: 2400-2407.
- [24] Kurrey N K, Jalgaonkar S P, Joglekar A V, Ghanate A D, Chaskar P D, Doiphode R Y, et al. Snail and slug mediate radioresistance and chemoresistance by antagonizing p53-mediated apoptosis and acquiring a stem-like phenotype in ovarian cancer cells[J]. *Stem Cells*, 2009, 27: 2059-2068.
- [25] Moody S E, Perez D, Pan T C, Sarkisian C J, Portocarrero C P, Sterner C J, et al. The transcriptional repressor Snail promotes mammary tumor recurrence[J]. *Cancer Cell*, 2005, 8: 197-209.
- [26] Rosivatz E, Becker I, Specht K, Fricke E, Lubber B, Busch R, et al. Differential expression of the epithelial-mesenchymal transition regulators snail, SIP1, and twist in gastric cancer[J]. *Am J Pathol*, 2002, 161: 1881-1891.
- [27] Yang J, Mani S A, Donaher J L, Ramaswamy S, Itzykson R A, Come C, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis[J]. *Cell*, 2004, 117: 927-939.
- [28] Wellner U, Schubert J, Burk U C, Schmalhofer O, Zhu F, Sonntag A, et al. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 1487-1495.
- [29] Yu M, Smolen G A, Zhang J, Wittner B, Schott B J, Brachtel E, et al. A developmentally regulated inducer of EMT, Lbx1, contributes to breast cancer progression[J]. *Genes Dev*, 2009, 23: 1737-1742.
- [30] Evdokimova V, Tognon C, Ng T, Ruzanov P, Melnyk N, Fink D, et al. Translational activation of snail1 and other developmentally regulated transcription factors by YB-1 promotes an epithelial-mesenchymal transition [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15: 402-415.
- [31] McCoy E L, Iwanaga R, Jedlicka P, Abbey N S, Chodosh L A, Heichman K A, et al. Six1 expands the mouse mammary epithelial stem/progenitor cell pool and induces mammary tumors that undergo epithelial-mesenchymal transition [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119: 2663-2677.
- [32] Park S M, Gaur A B, Lengyel E, Peter M E. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2[J]. *Genes Dev*, 2008, 22: 894-907.
- [33] Tavazoie S F, Alarcón C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos P D, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis[J]. *Nature*, 2008, 451: 147-152.
- [34] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg R A. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer[J]. *Nature*, 2007, 449: 682-688.
- [35] Marson A, Levine S S, Cole M F, Frampton G M, Brambrink T, Johnstone S, et al. Connecting microRNA genes to the core transcriptional regulatory circuitry of embryonic stem cells[J]. *Cell*, 2008, 134: 521-533.
- [36] Shimono Y, Zabala M, Cho R W, Lobo N, Dalerba P, Qian D, et al. Downregulation of miRNA-200c links breast cancer stem cells with normal stem cells[J]. *Cell*, 2009, 138: 592-603.