

· 综 述 ·

上皮间质转化与肿瘤耐药

黄迎娣, 崔 蕾, 黄利鸣 综述, 王艳林 审校

〔摘要〕 化疗是恶性肿瘤最常用的治疗手段之一,但肿瘤发生获得性耐药是阻碍临床疗效,导致大多数患者治疗失败的主要原因。近年来大量研究发现,肿瘤细胞上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)不仅促进肿瘤细胞的侵袭和转移,也在多种肿瘤发生化疗耐药中发挥重要作用。肿瘤细胞 EMT 的发生受复杂的信号通路调控,这些信号通路也在诱导肿瘤细胞耐药中起重要作用。本文综述了肿瘤细胞发生 EMT 与耐药相关机制的研究进展。

〔关键词〕 上皮间质转化;肿瘤;化疗;耐药;信号通路

〔中图分类号〕 R730.5 〔文献标志码〕 A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2014.06.020

化疗是治疗恶性肿瘤最常用手段之一,但肿瘤细胞耐药是导致肿瘤常规化疗失败的主要因素,也是患者预后不良的重要指标。肿瘤耐药包括原发性耐药和获得性耐药两大类。前者在开始治疗时肿瘤细胞对药物即不敏感,后者指原来对药物敏感的肿瘤细胞群,在反复治疗与药物屡次接触的过程中出现了耐药。近年来研究发现上皮细胞间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)在诱导肿瘤细胞耐药形成中起重要作用。肿瘤 EMT 发生受复杂信号通路的调控,这些信号通路也在诱导肿瘤细胞耐药中起重要作用,通过靶向 EMT 而逆转耐药亦成为潜在的肿瘤治疗策略,本文简要综述了该领域近年来的研究进展。

1 EMT 与肿瘤细胞耐药

EMT 是指上皮细胞在特定的生理和病理情况下向间充质细胞分化的现象,近年来研究发现,EMT 也与肿瘤耐药发生密切相关^[1]。肿瘤细胞在产生获得性耐药的过程中常具有间质化的趋势,而本身具有间质分化状态的肿瘤细胞也常变现为原发性耐药的特点。一般发生 EMT 的肿瘤细胞可获得凋亡抵抗,而凋亡抵抗通常导致肿瘤放、化疗耐受。研究资料证明,EMT 在多种肿瘤的化疗耐药中发挥重要作用,涉及的化疗药物包括紫杉醇、长春新碱、奥沙利铂、吉西他滨以及表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的靶向剂等^[2]。

1.1 结肠癌、乳腺癌等耐药 EMT 现象 Yang 等^[3]

通过将结肠癌细胞持续暴露给逐渐增加剂量的奥沙利铂而筛选获得奥沙利铂耐药的细胞株(oxaliplatin-resistant, OxR),经进一步分析发现, OxR 细胞具有 EMT 特征性改变,包括长梭形细胞形态、极性丧失、细胞分离、伪足形成等;免疫荧光检测发现 OxR 细胞中上皮细胞标志蛋白膜糖蛋白(E-cadherin)表达下调而间质细胞标志蛋白 Vimentin 表达上调。上述研究结果提示,奥沙利铂诱导的 EMT 可能与大肠癌细胞耐药密切相关。Jia 等^[4]采用类似的研究策略获得紫杉醇耐药的 NOS2 卵巢癌细胞株,同样发现除 EMT 相关的形态改变外,耐药细胞内与 EMT 相关的 MT1-MMP 的表达均显著增加;致瘤实验显示,腹膜下注射耐药细胞株后,小鼠形成的腹膜播散转移显著高于接种紫杉醇敏感细胞的小鼠。此后 Li 等^[5]的研究发现,用阿霉素处理 MCF-7 乳腺癌细胞既能触发细胞凋亡又能诱导细胞发生 EMT。在发生 EMT 的细胞内,EMT 相关转录因子 Twist1 表达增多,且只有发生 EMT 的细胞才表现出侵袭转移能力增强和多药耐药(multi-drug resistance, MDR)现象。

细胞之间黏附功能的丧失是 EMT 发生的重要环节,在肿瘤细胞的侵袭转移中发挥重要作用。以 E-cadherin 为核心的黏附复合体是细胞之间发生黏附的结构基础。该复合体的一个重要成员是位于胞浆中的 β -catenin,它通过与 E-cadherin 胞内尾区结构域相互作用而参与黏附复合体的形成。Hiscox 等^[6]发现,他莫昔芬(tamoxifen)耐药的乳腺癌细胞株在培养过程中形成的克隆松散,细胞之间的连接明显减少。用特异性中和抗体封闭膜表面 E-cadherin 的功能可提高药物敏感细胞株的侵袭能力和

基金项目: 国家自然科学基金项目(81374024);湖北省自然科学基金项目(2013CFA079)

作者单位: 443002 湖北宜昌,三峡大学医学院分子生物学研究所

通讯作者: 黄利鸣, E-mail: hlmyj8265@sina.com

抑制细胞聚集,但对耐药细胞却无此影响,提示耐药细胞表面的 E-cadherin 已经丧失功能。进一步分析发现,在耐药细胞中, β -catenin 蛋白分子内酪氨酸残基磷酸化水平显著升高,磷酸化的 β -catenin 不再与 E-cadherin 相互作用,由此从黏附复合体中大量释放至细胞浆并随后转移至细胞核内。由于 β -catenin 的磷酸化受 EGFR 激酶的催化,抑制该激酶活性能促进 β -catenin 与 E-cadherin 的结合,继而促进细胞间的相互黏附。上述结果提示, β -catenin 的高磷酸化修饰是耐药细胞发生 EMT 的重要原因。

1.2 胰腺癌耐药 EMT 现象 Arumuqam 等^[7]分析了 9 种胰腺癌细胞株对 3 种化疗药物(吉西他滨、5-氟尿嘧啶、顺铂)的敏感性及其与 EMT 的关系,其中 4 种为药物敏感细胞株,5 种为耐药细胞株。对两组细胞基因表达谱的分析发现,胰腺癌细胞内 E-cadherin 表达水平与 Zeb-1 (E-cadherin 基因转录抑制因子)的表达水平呈显著负相关,且这种负相关性与胰腺癌耐药密切相关。在间质型细胞中沉默 Zeb-1 基因不仅能增加细胞内 E-cadherin 等上皮细胞标志分子的表达水平,还能恢复耐药细胞对药物的敏感性,结果提示,Zeb-1 在促进 EMT 和维持胰腺癌细胞的耐药特性中发挥重要作用,是潜在的胰腺肿瘤治疗的分子靶点。

1.3 肺癌耐药 EMT 现象 位于细胞膜表面的 EGFR 在非小细胞肺癌的发生发展及侵袭转移过程中发挥重要作用。EGFR 的胞浆结构域具有酪氨酸激酶活性,抑制该活性将阻断 EGFR 介导的信号传导通路,由此抑制肿瘤生长。EGFR 酪氨酸激酶抑制剂 Erlotinib 和 Gefitinib 是目前用于非小细胞性肺癌治疗的新型抗肿瘤药物,但在临床应用中常有耐药现象发生,且这种耐药与 EMT 显著相关。耐药瘤细胞中,E-cadherin 表达减少,而 Vimentin 和 Zeb-1 表达升高,同时细胞的侵袭能力显著增加。在肺癌细胞内,E-cadherin 能与 EGFR 结合而抑制其活性,但 Zeb-1 通过将组蛋白去乙酰化酶(HDAC)募集到 E-cadherin 基因所在的部位而抑制 E-cadherin 的表达。因而耐药肺癌细胞中高表达 Zeb-1 将降低细胞内 E-cadherin 水平,这一方面促进 EMT 发生,另一方面也解除 E-cadherin 对 EGFR 的抑制,最终促进瘤细胞耐药和侵袭转移。在耐药细胞内高表达 E-cadherin 或用 HDAC 抑制剂处理细胞能提高瘤细胞对 Gefitinib 的敏感性。上述研究提示,将 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂与 HDAC 抑制剂联合用药有可能克服肺癌的耐药性^[8-11]。

2 肿瘤 EMT 信号通路

越来越多的研究表明,EMT 与肿瘤细胞耐药存在共同的信号调控途径,EMT 相关信号传导通路的激活和失调在肿瘤细胞间质化过程以及抗肿瘤药物耐药的过程中起协同的调控作用。

2.1 Notch 信号通路 Notch 是一种位于细胞膜表面的受体蛋白,由胞外结构域、单次跨膜区和胞内结构域构成。目前已经发现 4 种 Notch 受体蛋白(Notch 1-4)。相关配体的结合能刺激 Notch 蛋白发生裂解,其胞内结构域被释放出来并从胞质易位入核,由此调控多种下游基因的转录。最初人们认为 Notch 基因主要参与胚胎发育,近年研究发现 Notch 信号通路也参与 EMT 过程并与肿瘤细胞耐药的发生密切相关。

Wang 等^[12]发现,对吉西他滨耐药(gemcitabine-resistant, GR)的胰腺癌细胞发生了 EMT 现象,同时 Notch-2 及其配体 Jagged-1 在 GR 胰腺癌细胞中显著高表达,用特异性 siRNA 沉默 Notch-2 和 Jagged-1 的表达能降低 GR 胰腺癌细胞的侵袭能力,并使 GR 胰腺癌细胞获得上皮细胞的表型,由此提示 Notch 信号通路参与了胰腺癌的 EMT 过程并与瘤细胞耐药发生密切相关。

Chen 等^[13]发现,在乳腺癌细胞中低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)表达上调,它通过与 Notch 共活化因子 MAML1 协同作用而激活 Notch 信号途径,并导致瘤细胞中 E-cadherin 表达下降,细胞迁移侵袭能力增强。抑制 Notch 信号通路可逆转低氧对 EMT 相关因子 Slug 和 Snail 表达的诱导作用,增加 E-cadherin 表达水平,同时降低乳腺癌细胞的迁移和侵袭能力。

2.2 转化生长因子 β (TGF- β) 信号通路 TGF- β 不仅调节胚胎发育中的 EMT 过程,在肿瘤 EMT 过程中也起着重要作用,其机制主要是通过 Smad 依赖通路^[14]和非 Smad 依赖通路^[15]完成的。目前已发现至少 9 种 Smad 蛋白,它们从结构和功能上可分为 3 个亚型:受体调节性 Smad,包括 Smad1,2,3,5,8;共同介导性 Smad,如 Smad4;抑制性 Smad,包括 Smad6,7 等。典型的 Smad 依赖通路诱导的 EMT 过程如下:TGF- β 首先与肿瘤细胞膜上的 TGF- β II 型受体(TpR II)结合,通过 TpR II 激酶使 TGF- β I 型受体(TpR I)磷酸化,后者进一步激活下游的 Smad2/3,磷酸化的 Smad2/3 再与胞内的 Smad4 结合形成三聚体进入细胞核,在核内它们通过调控相关基因表达而促使 EMT 形成^[16]。显然,Smad4 在

TGF- β 诱导 EMT 过程中起着“中间人”的作用,然而,Smad4 也可上调上皮标志物 E-cadherin 的表达,加强结肠癌细胞 SW480 的细胞间连接^[17],因而被看作为一种抑癌基因。可见 TGF- β /Smad4 通路与肿瘤 EMT 的关系复杂,该通路到底是促进还是抑制肿瘤 EMT 过程,仍需进一步研究。TGF- β 也可通过非 Smad 依赖的通路对肿瘤 EMT 进行调节,TGF- β 通过丝裂原活化的蛋白激酶途径激活下游的细胞外调节蛋白激酶,从而诱导肿瘤 EMT 形成^[18]。TGF- β 对早期阶段的肿瘤具有生长抑制和诱导细胞凋亡的作用,一旦肿瘤细胞对 TGF- β 产生抗性,TGF- β 反而促进肿瘤发展。研究发现,EMT 转化因子 Snail1 是 TGF- β 抗性产生的关键性细胞因子。Snail1 高表达促进肝癌细胞发生 EMT 并对 TGF- β 产生抗性,而沉默 Snail 的表达则可阻断 EMT 发生,恢复瘤细胞对 TGF- β 的生长抑制性响应^[19]。

2.3 Wnt 信号通路 Wnt 信号系统在早期胚胎生长发育、特别是脑和神经系统形成中发挥重要作用^[20],同时也与干细胞自我更新和分化调控、小肠组织稳定性维持、骨密度调节以及脂肪细胞分化等生理过程密切相关^[21]。有研究发现,Wnt 信号转导途径的失调与多种已知的高发性癌变有关^[22]。Wnt 经典信号通路的活化由胞质链接蛋白的磷酸化/降解引起。在有 Wnt 配体信号存在时,膜 Wnt 受体蛋白 Frizzled 与 LRP5/6 形成复合物,该复合物通过胞质内蓬松蛋白(Dvl)的介导使细胞质中的蛋白降解复合物发生解离并失去活性,并成为不再能降解磷酸化的 β -catenin,由此 β -catenin 在细胞质中累积并转位进入细胞核,在胞核中 β -catenin 与 T 细胞因子(TCF)/淋巴增强子结合因子(LEF)转录因子结合,调节靶基因的表达^[23],这一过程与肿瘤细胞 EMT 的发生以及肿瘤转移密切相关。

EMT 相关蛋白因子 Slug 是受 Wnt/ β -catenin 信号上调的靶基因之一,具有抑制 E-cadherin 基因转录的功能。Prasad 等^[24]通过对 98 例临床浸润性乳腺导管癌样本的分析发现,瘤细胞内 Slug 水平显著升高而 E-cadherin 表达水平显著下降,由此推测,肿瘤组织中 Wnt/ β -catenin 信号通路被激活并导致浸润性乳腺导管癌细胞 EMT 发生。Snail 是另一个与 EMT 发生相关的转录因子,它通过抑制上皮相关基因的表达而促进 EMT 发生。Gnemmi 等^[25]研究发现,Wnt/ β -catenin 信号激活可以使结肠癌细胞内 Snail 表达增加,E-cadherin 表达降低,并导致瘤细胞发生 EMT。进一步分析发现,Snail 过表达又能正反馈性增加 Wnt 信号通路活性,增加其靶基因的表达

水平,且这一过程与 Snail 的转录活化功能无关。Snail 突变体(缺失转录活化结构域)仍能促进 Wnt 靶基因的转录。免疫共沉淀分析证实,Snail 能与 β -catenin 直接相互作用并增强后者的促转录活性,且这一功能与 Snail 自身的转录活化功能无关。Wnt5A 是与肿瘤发生发展密切相关的 Wnt 蛋白家族成员。Grossmann 等^[26]通过对黑色素瘤 EMT 的研究发现,Wnt5A 也能增加 Snail 和 Vimentin、降低 E-cadherin 的表达水平。但这一过程与 β -catenin 活性无关,而是受蛋白激酶 C(PKC)的介导。用 PKC 抑制剂能阻遏 Wnt5A 对 Snail 表达的上调作用,提示 Wnt5A 是通过 PKC 途径诱导黑色素瘤细胞发生 EMT 和促进瘤细胞侵袭转移。

2.4 Hedgehog 信号通路 Hedgehog(Hh)信号通路是胚胎发育过程中重要的调控信号,对胚胎组织细胞的生长分化、干细胞的维持都必不可少。Hh 信号通路异常激活将引起细胞的过度增殖,导致多种肿瘤发生。与肿瘤发生相关的 Hh 信号通路主要由配体 Hh、跨膜蛋白受体 patched(Ptch)和 smoothened(Smo)以及下游的转录因子 Gli 级联构成。当 Hh 缺失时,Ptch 可抑制 Smo 的活性,使 Hh 信号通路处于抑制状态;当 Hh 存在时,Ptch 结合 Hh,Smo 抑制被解除,活化的 Smo 将抑制 Gli 蛋白的酶促水解,使后者在细胞浆中堆积并以全长的形式进入细胞核,诱导目标基因的转录^[27]。近来研究证实,Hh 信号通路分子在多种肿瘤细胞中高表达,例如基底细胞癌、胰腺癌和胃癌等,Hh 信号通路是参与多种肿瘤侵袭转移的重要信号通路之一。Wan 等^[28]发现,胃癌细胞 Hh 通路活化能刺激癌细胞发生侵袭和转移。这一过程依赖于 TGF- β 介导的 ALK5-Smad 信号通路的活化。Ymazaki 等^[29]用哺乳动物的 Hh(Shh)转染胰腺癌细胞后,再用其培养上清液(含转染细胞分泌的 Shh)去培养内皮祖细胞,结果发现该种处理可诱导上皮祖细胞内 VEGF、间质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1,SDF-1)和血管形成素-1(angiopoietin-1,Ang-1)mRNA 表达水平的上调。将这种条件化处理的上皮祖细胞与脐静脉上皮细胞共培养,可促进后者在半固体的 Matrigel 培养基中形成血管状结构。提示靶向 Shh 的治疗既可以抑制肿瘤细胞的增殖,也可以抑制肿瘤血管的生成。

3 靶向 EMT 相关信号途径的抗肿瘤治疗

由于 EMT 在肿瘤的侵袭和转移过程中发挥了关键作用,因此针对该过程所涉及的信号分子的

抑制剂,有望成为有效的抗肿瘤治疗药物,对于改善肿瘤患者的预后意义重大。

大量的研究显示,许多肿瘤与 Notch1 受体表达异常有关,由此以 Notch1 为靶点的抗肿瘤治疗和新药开发已经成为抗肿瘤研究的热点领域。目前通过阻断 Notch 信号通路而治疗肿瘤的策略分为两类:选择性抑制和非选择性抑制。选择性抑制 Notch 受体包括应用直接靶向 Notch 的反义 RNA、siRNA、单克隆抗体和小分子抑制剂等,在体外及动物实验中这些方法均被证实有抑瘤的作用。非选择性抑制包括应用 Notch1 配体封闭剂、Notch1 活化必需的蛋白水解酶的抑制剂等。上述两种抑瘤治疗策略各有其优点。前者特异性强,毒性小,不易产生耐药。后者的优势在于,肿瘤细胞常表达 1 种以上的 Notch 受体,而非选择性抑制剂能使多种 Notch 同时失活,在某些情况下它们可能更具临床实用价值。如抑制剂 L-685458 和 MK-0752 能够阻断 C-分泌酶对 Notch 的切割,从而抑制 Notch 的胞内段释放进入细胞核,使信号无法继续传递。Notch 配体抑制剂目前已用于皮肤癌治疗的研究^[30]。

TGF- β 是新发现的最具潜力的抗肿瘤转移药物作用靶点。Fang 等^[31]从小分子化合物库(含 40 万个分子)中鉴定出一个能有效抑制 TGF- β 信号通路的小分子抑制剂 YR-290,该小分子能与 TGF- β 受体-1(TGF β R1)的激酶结构域相互作用并抑制其激酶活性。用 YR-290 处理乳腺癌细胞能阻断 TGF- β 介导的下游信号通路并抑制与肿瘤转移相关基因的表达,由此抑制 TGF- β 介导的乳腺癌细胞迁移和侵袭。在转移瘤小鼠动物模型中,YR-290 几乎完全阻止癌细胞的转移,并明显延长荷瘤小鼠的生存期,提示 YR-290 能阻断 TGF- β 信号通路,是一种新型的肿瘤转移抑制剂。

能干扰 Wnt/ β -catenin 复合物形成的特异性抗体及抑制剂有可能成为治疗特定恶性肿瘤的靶向药物。Dihlmann 等^[32]实验证实,阿司匹林及吲哚美辛均可通过干扰 β -catenin/TCF 复合物的功能而发挥抑瘤作用。Rice 等^[33]研究提示,应用舒林酸(sulindac)代谢物处理结肠癌细胞株,瘤细胞内 β -catenin 呈剂量依赖性减少。Boon 等^[34]则发现,Sulindac 可抑制肿瘤细胞内 β -catenin 向细胞核转位,阻遏 β -catenin 对 EMT 相关基因的诱导作用,由此抑制 EMT 和肿瘤转移。进一步探究 Wnt/ β -catenin 信号通路各组分的相互作用机制,将有助于新型抗肿瘤药物的研发,具有重要的临床意义。

Smo 是 Hedghog 通路中的信号转换器,Smo 的

活性增强能够导致 Hedghog 通路非正常活化。有研究发现,一种植物源性的 Hedghog 通路抑制剂 cyclopamine 能够抑制 Smo 的活性,从而阻断 Hh 通路的活化。在细胞和动物活体实验中,该药能抑制髓母细胞瘤的生长,且未观察到对其他细胞和实验动物的不良影响。转录因子 Gli 是 Hh 信号通路中的效应分子,具有激活 EMT 相关基因转录的功能^[35]。Mimeault 等^[36]用免疫组化方法测定了 52 例乳腺癌患者瘤组织中的 SHh、Ptc1 和 Gli1 表达水平,结果发现所有肿瘤组织的 Gli1 浓度都较其周围正常组织高,而 Cyclopamine 对 Gli1 的表达同样具有抑制作用,并由此抑制 Hedghog 通路激活所致的乳腺癌细胞增殖。

4 结 语

随着有关研究的逐渐深入,EMT 在肿瘤发生侵袭转移以及肿瘤细胞耐药中的重要作用也逐渐为人们所认识,以 EMT 为靶点的新型抗肿瘤药物和新治疗途径的研发已经成为该领域的研究热点。介导肿瘤细胞发生 EMT 和耐药的机制错综复杂,涉及多个信号通路及它们之间的交叉对话。进一步深入探讨肿瘤细胞发生 EMT 和耐药的分子机制,将为肿瘤的靶向治疗提供新的靶点,为克服肿瘤耐药提供新的手段。

【参考文献】

- [1] Micalizzi DS, Farabaugh SM, Ford HL. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2010, 15 (2): 117-134.
- [2] Monteiro J, Fodde R. Cancer stemness and metastasis: therapeutic consequences and perspectives[J]. Eur J Cancer, 2010, 46 (7): 1198-1203.
- [3] Yang C, Fu ZX. Liposomal delivery and polyethylene glycol-liposomal oxaliplatin for the treatment of colorectal cancer (Review) [J]. Biomed Rep, 2014, 2 (3): 335-339.
- [4] Jia L, Zhang S, Ye Y, et al. Paclitaxel inhibits ovarian tumor growth by inducing epithelial cancer cells to benign fibroblast-like cells [J]. Cancer Lett, 2012, 326 (2): 176-82.
- [5] Li QQ, Xu JD, Wang WJ, et al. Twist1 mediated adriamycin induced epithelial-mesenchymal transition relates to multidrug resistance and invasive potential in breast cancer cells [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15 (8): 2657-2665.
- [6] Hiscox S, Jiang WG, Obermeier K, et al. Tamoxifen resistance in MCF7 cells promotes EMT-like behaviour and involves modulation of β -catenin phosphorylation [J]. Int J Cancer, 2006, 118 (2): 290-301.
- [7] Arumugam T, Ramachandran V, Fournier KF, et al. Epithelial to

- mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(14): 5820-5828.
- [8] Suda K, Tomizawa K, Fujii M, et al. Epithelial to mesenchymal transition in an epidermal growth factor receptor-mutant lung cancer cell line with acquired resistance to erlotinib[J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(7): 1152-1161.
- [9] Rho JK, Choi YJ, Lee JK, et al. Epithelial to mesenchymal transition derived from repeated exposure to gefitinib determines the sensitivity to EGFR inhibitors in A549, a non-small cell lung cancer cell line[J]. *Lung Cancer*, 2009, 63(2): 219-226.
- [10] Shintani Y, Okimura A, Sato K, et al. Epithelial to mesenchymal-transition is a determinant of sensitivity to chemoradiotherapy in non-small cell lung cancer[J]. *Ann Thorac Surg*, 2011, 92(5): 1794-1804.
- [11] Chunhacha P, Sriuranpong V, Chanvorachote P. Epithelial-mesenchymal transition mediates anoikis resistance and enhances invasion in pleural effusion-derived human lung cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(3): 1043-1047.
- [12] Wang Z, Li Y, Kong D, 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(6): 2400-2407.
- [13] Chen J, Imanaka N, Chen J, et al. Hypoxia potentiates Notch signaling in breast cancer leading to decreased E-cadherin expression and increased cell migration and invasion[J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(2): 351-360.
- [14] Watanabe Y, Itoh S, Goto T, et al. TMEPAI, a transmembrane TGF-beta-inducible protein, sequesters Smad proteins from active participation in TGF-beta signaling[J]. *Mol Cell*, 2010, 37(1): 123-134.
- [15] Matsuzaki K. Smad phospho-isoforms direct context-dependent TGF-beta signaling[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2013, 24(4): 385-399.
- [16] Vincent T, Neve EP, Johnson JR, et al. A SNAIL1-SMAD3/4 transcriptional repressor complex promotes TGF-beta mediated epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(8): 943-950.
- [17] Pohl M, Radacz Y, Pawlik N, et al. SMAD4 mediates mesenchymal-epithelial reversion in SW480 colon carcinoma cells[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(7): 2603-2613.
- [18] Miyata N, Azuma T, Hozawa S, et al. Transforming growth factor beta and Ras/MEK/ERK signaling regulate the expression level of a novel tumor suppressor Lefty[J]. *Pancreas*, 2012, 41(5): 745-752.
- [19] Franco DL, Maines J, Vega S, et al. Snail1 suppresses TGF-beta-induced apoptosis and is sufficient to trigger EMT in hepatocytes[J]. *Cell Sci*, 2010, 123(Pt20): 3467-3477.
- [20] Fossat N, Jones V, Khoo P L, et al. Stringent requirement of a proper level of canonical Wnt signalling activity for head formation in mouse embryo[J]. *Development*, 2011, 138(4): 667-676.
- [21] 尹定子, 宋海云. Wnt 信号通路: 调控机理和生物学意义[J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 33(2): 103-111.
- [22] Voloshanenko OL, Erdmann G, Dubash TD, et al. Wnt secretion is required to maintain high levels of Wnt activity in colon cancer cells[J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2610.
- [23] Zerlin M, Julius MA, Kitajewski J. Wnt/frizzled signaling in angiogenesis[J]. *Angiogenesis*, 2008, 11(1): 63-69.
- [24] Prasad C P, Rath G, Mathur S, et al. Expression analysis of E-cadherin, Slug and GSK3beta in invasive ductal carcinoma of breast[J]. *BMC Cancer*, 2009, 9: 325.
- [25] Gnemmi V, Bouillez A, Gaudelot K, et al. MUC1 drives epithelial-mesenchymal transition in renal carcinoma through Wnt/beta-catenin pathway and interaction with SNAIL promoter[J]. *Cancer Lett*, 2014, 346(2): 225-236.
- [26] Grossmann AH, Yoo JH, Clancy J, et al. The small GTPase ARF6 stimulates beta-catenin transcriptional activity during WNT5A-mediated melanoma invasion and metastasis[J]. *Sci Signal*, 2013, 6(265): 14.
- [27] Robbins DJ, Fei DL, Riobo NA. The hedgehog signal transduction network[J]. *Sci Signal*, 2013, 5(246): 6.
- [28] Wan J, Zhou J, Zhao H, et al. Sonic hedgehog pathway contributes to gastric cancer cell growth and proliferation[J]. *Biores Open Access*, 2014, 3(2): 53-59.
- [29] Ymazaki M, Nakamura K, Mizukami Y, et al. Sonic hedgehog derived from human pancreatic cancer cells augments angiogenic function of endothelial progenitor cells[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(6): 1131-1138.
- [30] 刘兆国, 朱智杰, 周 梁, 等. Notch 信号通路与肿瘤研究[J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(8): 1045-1048.
- [31] Fang Y, Chen Y, Yu L, et al. Inhibition of breast cancer metastases by a novel inhibitor of TGF-beta receptor 1[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105(1): 47-58.
- [32] Dihlmann S, Siemann A, von Knebel Doeberitz M. The nonsteroidal anti-inflammatory drugs aspirin and indomethacin attenuate beta-catenin/TCF4 signaling[J]. *Oncogene*, 2001, 20(5): 645-653.
- [33] Rice PL, Kelloff J, Sullivan H, et al. Sulindac metabolites induce caspase- and proteasome-dependent degradation of beta-catenin protein in human colon cancer cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(9): 885-892.
- [34] Boon EM, Keller JJ, Wormhoudt TA, et al. Sulindac targets nuclear beta-catenin accumulation and Wnt signalling in adenomas of patients with familial adenomatous polyposis and in human colorectal cancer cell lines[J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(1): 224-229.
- [35] 王琪琳, 苏 玲, 刘相国. Hedgehog 信号通路与肿瘤[J]. *生命的化学*, 2011, 31(1): 21-26.
- [36] Mimeault M, Moore E, Moniaux N, et al. Cytotoxic effects induced by a combination of cyclopamine and gefitinib, the selective hedgehog and epidermal growth factor receptor signaling inhibitors, in prostate cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118: 1022-1031.

(收稿日期: 2014-07-23; 修回日期: 2014-08-30)

(本文编辑: 张仲书)