

# 上皮间质转化在肺癌中的研究进展

张琨琨<sup>1</sup>综述, 攀伟奇<sup>2</sup>审校(第三军医大学第二附属医院, 重庆 400037; 2. 重庆市肿瘤研究所 400030)

**【关键词】** 上皮间质转化; 肺癌; 肿瘤干细胞; 转移

**DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.21.037** 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)21-2726-02

肺癌是全球新发病例和死亡病例均居首位的恶性肿瘤, 影响患者预后的主要因素是出现局部复发及远处转移。新近研究表明, 上皮间质转化(EMT)在肿瘤演进中是一个重要的决定性过程<sup>[1-2]</sup>, 与肿瘤细胞侵袭、转移乃至“干性”等密切相关。

## 1 EMT 概念

EMT 是上皮细胞失去上皮特性获得间质细胞表型的一种生物现象。EMT 发生后, 细胞间连接蛋白及上皮特异性蛋白表达下降, 如 E-钙黏蛋白(E-cad)、 $\beta$ -连环蛋白等; 同时伴随间充质细胞特异性蛋白表达增高, 如波形蛋白(vimentin)、N-钙黏蛋白(N-cad)等。EMT 在人胚胎干细胞分化过程中起着关键作用, 这个过程在组织修复再生、器官纤维化和肿瘤发生时可被病理激活<sup>[3]</sup>。肿瘤细胞是否存在 EMT 现象, 曾一度出现争论。在一项乳腺癌研究中, 研究者利用间质和上皮细胞特异性表达 Cre 重组酶转基因小鼠模型, 首次提供了肿瘤细胞在体内演进中发生 EMT 的直接证据<sup>[4]</sup>, 从而使 EMT 从理论推测逐步走向肿瘤转化医学研究。

## 2 EMT 相关信号通路

EMT 可被多种信号分子所诱导, 如  $\beta$  生长转化因子(TGF $\beta$ )、肝细胞生长因子、成纤维细胞生长因子(FGF)以及 Wnt、Notch 与 hedgehog 通路蛋白等。TGF $\beta$  是当前研究最广泛的 EMT 诱导因子, 其与受体结合后, 将发放跨膜信号, 直接磷酸化 C-末端激活 Smad2 和 Smad3, 后二者与 Smad4 形成三聚体转移进入核内, 进而通过与 DNA 转录结合位点作用调控 TGF $\beta$  应答基因表达<sup>[5]</sup>。但是, 由于 Smad 分子与 DNA 亲和力较低, 这一过程中还需要 Snail、ZEB 等转录因子的协同作用, 以获得对应答基因更高的亲和力和选择性。另外, TGF $\beta$  还可与其他信号通路协同促发 EMT, 肺腺癌细胞株 A549 在 TGF $\beta$  诱导下将导致 sonic hedgehog 上调, 引起 hedgehog 信号通路激活, 从而使细胞发生 EMT 表型改变<sup>[6]</sup>。

## 3 EMT 的转录调控

EMT 是一个有序的、多步骤、可高度调节的复杂生物学过程, 转录因子(TFs)与微小 RNA(miRNA)在其中发挥了重要调控作用<sup>[7]</sup>。特定的 TFs 被 EMT 诱导信号激活后可驱动细胞发生相应表型变化。E-cad 丢失被认为是 EMT 的重要特征之一, 涉及 E-cad 转录抑制的主要转录因子包括 Snail、ZEB、Twist、KLF8 和 FoxC2 等, 它们在 EMT 过程中表达增加, 从而抑制 E-cad 的表达。miRNA 作为一种短链非编码 RNA(20-22 nt), 以碱基互补配对的方式, 可与 EMT 相关基因 mRNA 的 3' 端未翻译区(3'UTR)结合, 进而通过抑制其 mRNA 的翻译, 目前已证实 miRNA-200 参与对肺癌 EMT 进程调控, 上调其表达可恢复 E-cad 表达、抑制 N-cad 表达<sup>[8]</sup>。

## 4 EMT 与肺癌干细胞

肿瘤干细胞(CSCs)是肿瘤细胞中具有自我更新能力和多向分化能力的亚群。越来越多的证据表明, 具有 EMT 表型细

胞表现出 CSCs 特征, 从而将 EMT 与 CSCs 联系在一起。已有研究证实, 通过上调肺腺癌细胞 Oct4 和 Nanog 表达, 可增加 CD133 阳性细胞亚群和成球能力, 增强化疗抗拒性, 促发 EMT 进程而阻断 Oct4 和 Nanog 表达, 可逆转 EMT 进程, 并降低癌细胞转移、侵袭和体内成瘤能力<sup>[9]</sup>; 经 TGF $\beta$  诱导的人肺腺癌细胞株 LC31 发生 EMT 表型改变的同时, Oct4、Nanog、Sox2 和 CD133 等干细胞相关基因显著上调, 而且成瘤能力也明显增强<sup>[10]</sup>。新近研究进一步表明, 受烟雾致癌原诱导的人支气管永生化细胞株将发生 EMT 表型改变, 并获得 CD44high/CD24low、CD133、ALDH1 等干细胞相关表型<sup>[11]</sup>。以上证据提示, 肺癌干细胞自我更新与 EMT 进程之间有紧密关联。

## 5 EMT 与肺癌转移

EMT 发生后, 肿瘤细胞上皮极性丢失, 细胞间的黏附减弱和肿瘤细胞运动能力增加, 从而导致肿瘤细胞侵袭能力显著增强。已有研究发现, EMT 相关标记物与肺癌患者病理分期及预后密切相关, 波形蛋白表达与肺腺癌病理分级与 TNM 分期呈正相关, E-钙黏蛋白高表达者经治疗后具有更长的致疾病进展时间<sup>[12-13]</sup>。循环肿瘤细胞(CTC)监测是早期发现肿瘤微转移的有效手段之一, 在肺癌患者外周血中可检测到角蛋白、波形蛋白双阳性的 CTC, 但却未能检测到角蛋白单阳性的 CTC<sup>[14]</sup>。体外经 TGF $\beta_1$  诱导的肺腺癌细胞株失去了上皮特性, 获得了间质细胞表型, 有着更强的侵袭、迁移能力<sup>[15]</sup>。

## 6 EMT 与肺癌细胞耐药

肺癌细胞 EMT 被发现是诱发肺癌细胞抗拒细胞毒药物乃至分子靶向药物的重要机制之一<sup>[8,16]</sup>。在获得性 erlotinib 耐药的肺腺癌患者原发灶与转移灶对照病理研究中发现, 转移灶并未出现表皮生长因子外显子 20/T790M 突变以及 c-MET 基因扩增等, 而呈现出明显的 EMT 现象, E-cad 低表达, vimentin 呈高表达; 在构建的耐药细胞株也发生了相同表型改变, 其侵袭和转移能力也明显增强, 受体酪氨酸蛋白激酶检测又证实获得性耐药与旁路激活无关。

## 参考文献

- [1] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-Mesenchymal Transitions in Development and Disease [J]. Cell, 2009, 139(5): 871-890.
- [2] Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis [J]. Science, 2011, 331(6024): 1559-1564.
- [3] Kalluri R. EMT: When epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells [J]. J Clin Invest, 2009, 119(6): 1417-1419.
- [4] Trimboli AJ, Fukino K, de Bruin A, et al. Direct evidence for epithelial-mesenchymal transitions in breast cancer [J]. Cancer Res, 2008, 68(3): 937-945.

[5] Fuxe J, Vincent T, Garcia de Herreros A. Transcriptional crosstalk between TGFβ and stem cell pathways in tumor cell invasion; Role of EMT promoting Smad complexes[J]. Cell Cycle, 2010, 9(12): 2363-2374.

[6] Maitah MY, Ali S, Ahmad A, et al. Up-regulation of sonic hedgehog contributes to TGF-β1-induced epithelial to mesenchymal transition in NSCLC cells[J]. PLoS One, 2011, 6(1): e16068-e16072.

[7] Moreno-Bueno G, Portillo F, Cano A. Transcriptional regulation of cell polarity in EMT and cancer[J]. Oncogene, 2008, 27(55): 6958-6969.

[8] Ceppi P, Mudduluru G, Kumarswamy R, et al. Loss of miR-200c expression induces an aggressive, invasive, and chemoresistant phenotype in non-small cell lung cancer [J]. Mol Cancer Res, 2010, 8(9): 1207-1216.

[9] Chiou SH, Wang ML, Chou YT, et al. Coexpression of Oct4 and Nanog enhances malignancy in lung adenocarcinoma by inducing cancer stem cell-like properties and epithelial-mesenchymal transdifferentiation[J]. Cancer Res, 2010, 70(24): 10433-10444.

[10] Pirozzi G, Tirino V, Camerlingo R, et al. Epithelial to mesenchymal transition by TGFβ-1 induction increases stemness characteristics in primary non small cell lung cancer cell line [J]. PLoS One, 2011, 6(6): e21548-e21552.

[11] Tellez CS, Juri DE, Do K, et al. EMT and stem cell-like properties associated with miR-205 and miR-200 epige-

netic silencing are early manifestations during carcinogen-induced transformation of human lung epithelial cells[J]. Cancer Res, 2011, 71(8): 3087-3097.

[12] Kim SH, Kim JM, Shin MH, et al. Correlation of epithelial-mesenchymal transition markers with clinicopathologic parameters in adenocarcinomas and squamous cell carcinoma of the lung[J]. Histol Histopathol, 2012, 27(5): 581-591.

[13] Yauch RL, Januario T, Eberhard DA, et al. Epithelial versus mesenchymal phenotype determines in vitro sensitivity and predicts clinical activity of erlotinib in lung cancer patients[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(24): 8686-8698.

[14] Lecharpentier A, Vielh P, Perez-Moreno P, et al. Detection of circulating tumour cells with a hybrid (epithelial/mesenchymal) phenotype in patients with metastatic non-small cell lung cancer [J]. Br J Cancer, 2011, 105(9): 1338-1341.

[15] Kim JH, Jang YS, Eom KS, et al. Transforming growth factor beta1 induces epithelial-to-mesenchymal transition of A549 cells[J]. J Korean Med Sci, 2007, 22(5): 898-904.

[16] Chung JH, Rho JK, Xu X, et al. Clinical and molecular evidences of epithelial to mesenchymal transition in acquired resistance to EGFR-TKIs[J]. Lung Cancer, 2011, 73(2): 176-182.

(收稿日期: 2012-06-28)

## Y 染色体微缺失检测及临床应用

丑广程, 李铁民 综述, 陈占良 审校(河北大学附属医院检验科, 河北保定 071000)

**【关键词】** 无精子症因子; Y 染色体微缺失; 无精子症

**DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.21.038 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)21-2727-03**

无精子症因子(AZF)是由 Tiepolo 等在 1976 年首先提出, 他们认为 AZF 是存在于 Y 染色体长臂控制精子生成的基因位点。以后又有大量研究证实存在染色体 Yq11.23 上存在着精子生成控制的基因, Y 染色体长臂第 5、6 间隔区内至少存在 4 个互不重叠的区域与精子生成有关, 即 AZFa、AZFb、AZFc 和 AZFd 等<sup>[1]</sup>, 每个区域内又包含若干 AZF 候选基因, 如 DF-FRY/USP9Y、DBY(AZFa)、RBM1Y(AZFb)、DAZ(AZFc)等。以上基因的缺失或异常可能导致精子生成异常。随着分子生物学检测技术的发展和普及, 给 Y 染色体微缺失的检测提供了良好的技术条件, 我国在 Y 染色体微缺失方面的研究也越来越多, 辅助生育技术也在逐渐开展, 本文就相关内容综述如下。

### 1 Y 染色体微缺失的特点

**1.1 Y 染色体微缺失的临床表现** AZF 微缺失的类型随精子生成障碍类型不同而不同。曾有研究发现, AZFa 缺失患者表现为唯支持细胞综合征<sup>[2]</sup>; AZFb 缺失患者表现为精子成熟障碍, 主要停滞在精母细胞阶段<sup>[3]</sup>; AZFc 缺失是临床上最常见的 AZF 缺失类型, 患者临床表现为少精子症。以后进一步临床研究发现, 唯支持细胞综合征患者也可存在 AZFb 与

AZFc 的缺失<sup>[4]</sup>。不同的研究结果提示, AZFa、AZFb 和 AZFc 3 个区同时缺失者 100% 表现为无精子症; AZFa 完全缺失或 AZFb 与 AZFc 2 个区同时缺失者 96% 为无精子症<sup>[3,5-7]</sup>。

**1.2 Y 染色体微缺失的发生频率** 统计国外文献 Y 染色体缺失率为 1%~55%<sup>[8]</sup>, 数据相差很大。Vogt<sup>[9]</sup>统计了 1992~1997 年发表的 10 余篇文献, 发现 Y 染色体微缺失的平均发生率约为 10%。Simoni 等<sup>[10]</sup>统计了 1995~1997 年发表的相关文献, 发现男性不育者 Y 染色体微缺失率约为 7.3%, 其中无精子症患者占 66%, 少精子症、精子计数正常者分别占 28% 和 6%。国内学者也做了 Y 染色体微缺失研究, 如郑红云等<sup>[11]</sup>检测了 200 例男性不育患者样本, 发现 AZF 总缺失率为 3.5%, 单纯 AZFc 缺失率为 1%, 单纯 AZFb 缺失率为 1.5%, 单纯 AZFa 缺失率为 1%, 未发现 2 个区以上联合缺失。叶长烂等<sup>[12]</sup>报道 151 例无精少精患者中总 Y 染色体微缺失率为 5.3%。其中 25 例无精子症不育者 AZF 缺失率为 12%, 均为 AZFc 整体缺失 (SY242、SY254、SY255 及 SY239 全部缺失) 及 AZFd 部分缺失 (SY152 缺失); 126 例少精子症不育者, AZF 缺失率为 4.0%, 其中 4 例为 AZFc 整体缺失 (SY242、SY254、SY255 及 SY239 全部缺失) 及 AZFd 部分缺失 (SY152