

上皮间质转化在结直肠肿瘤细胞中干细胞特性获得的研究进展

李仕宇, 朱蓉, 赵逵

■背景资料

结直肠癌仍是全球最高发的恶性肿瘤之一, 虽然治疗手段取得了很大的提高, 但每年仍约有61万例人死于该病, 而导致死亡的主要原因是肿瘤发生转移、复发或耐药形成。肿瘤发生侵袭转移、复发及耐药与肿瘤细胞发生上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)并获得干细胞属性相关。

李仕宇, 朱蓉, 赵逵, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563099

李仕宇, 在读硕士, 主要从事大肠癌的研究。

贵州省高层次人才科研条件特助基金资助项目, No. TZJF-2011-32

作者贡献分布: 本文综述由李仕宇与朱蓉共同设计; 李仕宇撰写完成; 赵逵审校。

通讯作者: 赵逵, 教授, 主任医师, 563099, 贵州省遵义市大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科。

kuizhao95868@msn.com

收稿日期: 2015-06-29 修回日期: 2015-08-03

接受日期: 2015-08-17 在线出版日期: 2015-09-08

Progress in understanding role of epithelial to mesenchymal transition in acquisition of stem cell properties by colorectal tumor cells

Shi-Yu Li, Rong Zhu, Kui Zhao

Shi-Yu Li, Rong Zhu, Kui Zhao, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563099, Guizhou Province, China

Supported by: the Guizhou Provincial Special Scientific Research Fund for High-level Talents, No. TZJF-2011-32

Correspondence to: Kui Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 563099, Guizhou Province, China. kuizhao95868@msn.com

Received: 2015-06-29 Revised: 2015-08-03

Accepted: 2015-08-17 Published online: 2015-09-08

Abstract

Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a dynamic process in which cells lose epithelial features and gain mesenchymal properties. This process not only contributes to the

normal development of tissues and organs, inflammation and wound-related fibrosis or mucosal repair but also participates in carcinoma progression, promotes tumor cell invasion and metastasis and induces stem cell properties. EMT also contributes to occurrence of tumor recurrence, metastasis and multi-drug resistance. This review illuminates the mechanism that EMT promotes colorectal carcinoma cells to obtain stemness in terms of microRNAs, signaling pathways and microenvironment, with an aim to provide novel and safe strategies for clinical target therapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Epithelial-mesenchymal transition; Colorectal cancer; Cancer stem cells; MicroRNAs

Li SY, Zhu R, Zhao K. Progress in understanding role of epithelial to mesenchymal transition in acquisition of stem cell properties by colorectal tumor cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(25): 4060-4068 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4060.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i25.4060>

摘要

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞丢失上皮特性向间质细胞特性转变的一种动态过程, 他不仅参与了正常组织器官的发育、炎症创伤相关的纤维性修复及黏膜修复, 还参与了肿瘤的发生发展, 促进肿瘤细胞的侵袭和转移, 并能使肿瘤细胞获得干细胞特性, 有助于恶

■同行评议者

周建奖, 教授, 贵阳医学院分子生物学重点实验室

性肿瘤复发、转移及多重耐药形成. 本文从microRNAs、信号通路及微环境等方面阐述EMT促进结直肠癌肿瘤细胞获得干性的作用机制, 旨在为临床靶向治疗提供更新颖和安全的治疗策略.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 上皮间质转化; 结直肠癌; 肿瘤干细胞; 微小RNA

核心提示: 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition)不仅与多种肿瘤的发生发展、侵袭和转移相关, 还能使肿瘤细胞获得干细胞特性, 有助于恶性肿瘤复发、转移及多重耐药形成, 其中microRNAs、信号通路及微环境等共同参与此过程的调控.

李仕宇, 朱蓉, 赵逢. 上皮间质转化在结直肠癌肿瘤细胞中干细胞特性获得的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(25): 4060-4068 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4060.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i25.4060>

0 引言

恶性肿瘤至今仍是人类面临的世界性难题, 严重威胁着人类的生存与健康. 虽然早期诊断和治疗取得了很大进步, 病情缓解率和生存率均有大幅度改善, 但肿瘤的复发和耐药等问题仍广泛存在^[1]. 结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)是全球最高发的三大恶性肿瘤之一, 虽然治疗手段取得了很大的提高, 但仍有大约50%被确诊为结直肠癌的患者会发生肿瘤转移或复发, 每年约有61万人死于该病, 而导致死亡最主要的原因是发生了肿瘤转移, 肝脏是最常见的转移部位^[2]. 有许多证据表明肿瘤发生侵袭和转移与肿瘤细胞发生上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)并获得干细胞属性直接相关. 目前, 研究证实EMT和肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)之间存在着一定的关联, 以及这些关联与CRC的发生发展、治疗耐受和复发之间存在密切联系^[3]. 因此, 进一步探讨EMT与CSCs导致肿瘤发生转移及耐药的机制, 以及寻找更有效的治疗靶点仍是肿瘤研究领域的重点.

1 EMT概述

EMT最初是在胚胎发育过程中发现的, 在人

胚胎细胞的分化中起着关键的作用, 是由上皮来源细胞上皮特性的丢失和间质特性的获得的一个独特的转变过程^[4]. EMT是上皮细胞由多边形变为梭形的纤维细胞形态, 上皮细胞去除已分化表型, 包括细胞-细胞间黏附变得松弛、顶-底极性消失及细胞骨架的重构等特性, 而获得某些间质细胞的表型, 包括侵袭、移动、抗凋亡和衰老等特性, 这种表型的转变增加了细胞能动性和侵袭性^[5]. 在成体组织中EMT处于静止状态, 受到创伤修复和组织再生时被激活. EMT还能使肿瘤细胞具有干细胞的特性, 促使肿瘤干细胞的产生^[6]. EMT是细胞两种形态学不同阶段的转变, 包括上皮细胞E-Cadherin的下调和间质细胞标志物的上调, 如Vimentin. 而E-Cadherin表达的丢失或下调是细胞形态学改变的关键步骤. 与EMT相关的miRNAs、分子信号通路、生长因子及转录因子等被认为是EMT潜在的始发者. 在对恶性肿瘤的发生发展以及治疗的过程中, EMT参与CSCs的形成、肿瘤侵袭和转移、肿瘤细胞抗凋亡及抗放化疗等多个环节^[6]. 而近期出现大量有关EMT和CSCs形成的研究, 证实EMT对肿瘤晚期导致的远处转移及多重耐药所需的干细胞属性的获取也有作用.

2 肿瘤干细胞概述

目前已有大量研究证明肿瘤组织中存在着一类干细胞样的细胞, 被称为CSCs^[7]. CSCs是肿瘤组织中存在的一小部分未分化的具有干细胞属性的肿瘤细胞, 他可以自我更新、不断繁殖及拥有多向分化潜能. 这种细胞被认为与肿瘤的高度侵袭性及放化疗药物的耐药性密切相关, 目前也认为与肿瘤复发相关^[8]. 有研究^[9]表明, 某些结肠癌等肿瘤产生于组织特异性干细胞的多次突变, 这种细胞可以通过遗传传递给后代, 这为存在家族性的高发病率提供了可能性的解释. CSCs是直接起源于干细胞的多次基因突变还是肿瘤形成过程中经EMT诱导获得干细胞特性的成熟细胞目前还不清楚. Mani等^[10]对永生化的人乳腺上皮细胞行EMT诱导后获得了间质特性, 不但增加了干细胞表面标志物的表达, 也增加了乳腺肿瘤细胞成球能力, 同时乳腺癌中分离的干样细胞也表达EMT的标志, 该研究提示癌细胞受EMT的诱导可能是肿瘤干细胞的来源. 也有人提出干细胞的自我

■ 研究前沿

EMT的发生和干细胞特性的获得有密切联系, EMT的发生导致了肿瘤细胞的迁移、侵袭和自我更新能力, 但具体机制仍不清楚.

■ 相关报道

Wellner等也在结直肠癌和胰腺癌中证实, EMT激活因子Zeb1不仅可使肿瘤细胞发生转移还使肿瘤细胞获得肿瘤起始能力并调节干性因子Sox2和Klf4.

更新和正常分化需要基因组及其广泛调控网络的紧密调控, 包括肿瘤微环境里各种细胞因子及信号通路, 而这一稳态的丧失或改变是导致干细胞异常分化成瘤的原因^[11]. 结肠肠腔壁的解剖结构由内到外分为四层: 由黏膜层、黏膜下层、固有肌层及浆膜层组成. 黏膜层又由腺上皮、固有层及黏膜肌层组成. 上皮细胞排列在被折叠成指样结构的质膜内陷的单层膜里, 并被封闭在黏膜下层结缔组织形成的隐窝里^[12]. 干细胞位于隐窝的底部, 干细胞分化形成的增殖细胞、正在分化的细胞和凋亡细胞由隐窝底部向上迁移到隐窝顶部^[13]. 位于结直肠隐窝基底部的隐窝干细胞恶性增殖与结直肠恶性肿瘤的发生发展有关. 研究^[14]发现, 正常组织中隐窝细胞很少, 只有几千个, 而癌组织中其数量很多, 有关癌基因的激活和抑癌基因的失活是引起这种变化的主要原因, 从而导致结肠隐窝干细胞恶性增殖, 所以认为结直肠癌干细胞的起源是隐窝干细胞. CSCs表达特异的分子表面标志如CD44、CD24、CD133等, 具有形成和维持肿瘤生长和异质性的能力, 能够使肿瘤细胞产生耐药性, 可促进肿瘤增生、复发及转移, 在肿瘤的发生发展和恶化过程中发挥重要作用^[15]. 虽然大多数实体肿瘤都没有明显的特异性标志物, 这就增加了筛选肿瘤干细胞并对其靶向治疗的难度, 但经过多年的研究, 部分肿瘤表达特异性高的标志物逐渐被人们发现, 如白血病干细胞的特异性标志物为CD34⁺CD38⁻^[16], 乳腺癌干细胞的特异性标志物为CD44⁺CD24^{-low}Lineage⁻ALDH⁺^[17], 胰腺干细胞的特异性标志物为CD44⁺CD24⁺ESA⁺^[18], 结肠癌干细胞的标志物为CD133⁺^[19], 肝癌干细胞的特异性标志物为CD90⁺^[20].

3 EMT与结直肠肿瘤干细胞

EMT是上皮细胞两种形态学不同阶段的转变过程, 包括上皮细胞特异标志物E-Cadherin的下调和间质细胞特异标志物的上调. E-Cadherin的丢失使得β-catenin大量进入细胞核, 引发了经典的Wnt信号通路的激活^[21]. 而Wnt信号通路的激活不但可以刺激干细胞的增殖, 还可刺激诱导EMT转录因子的表达. 研究发现上皮细胞经过EMT丢失上皮属性获得侵袭和转移的能力转变成间充质细胞, 间质细胞再进一步变成间充质干细胞获得干样属性,

但其具体机制不明确. EMT的发生和干细胞特性的获得有密切联系, EMT的发生导致了肿瘤细胞的迁移、侵袭和自我更新能力. Hwang等^[22]对结直肠癌干细胞进行基因芯片分析, 发现除高表达结肠癌干细胞标志分子CD44和CD166等, 同时还高表达调控EMT的转录因子Snail. Kirkland^[23]发现在人结直肠癌中, I型抗原可下调E-Cadherin造成细胞间黏附减少诱导结肠癌细胞发生EMT并抑制细胞分化, 同时增加克隆形成, 促进结肠癌干细胞标志物CD133和干性基因*Bmi1*表达. 而EMT相关蛋白β-catenin通过调节细胞内转录因子Brachyury来影响干性标志物Nanog的表达, 使肿瘤细胞获得干细胞的特性并增加细胞的侵袭和转移的能力^[24]. 在其他肿瘤细胞中同样存在EMT和细胞干性获得的联系. 人永生乳腺上皮细胞在转化生长因子(transforming growth factor, TGF)-Twist和Snail介导下发生EMT, 使非致瘤性的乳腺上皮细胞上皮标志物表达下调间质标志物表达上调并获得了干细胞样特性CD44⁺CD24⁻, 这些干样细胞不仅可以体外成球, 还可以体内致瘤^[25]. 在肺腺癌中, Oct4和Nanog的共表达也可诱导EMT转录因子Slug的激活和调控肿瘤干细胞的特性, 同时也加强肿瘤细胞的恶性和减少了小鼠的平均生存时间^[26]. 在干性基因*Oct4*过表达的口腔鳞状细胞癌中也通过介导EMT使肿瘤细胞获得肿瘤起始能力^[27]. Yasui等^[28]在对甲状腺癌的研究中发现经Snail诱导的甲状腺癌可发生EMT和CSCs表型的形成. Snail的过表达也会促使结直肠癌细胞发生EMT转变并获取干性^[3]. 那么阻止肿瘤细胞发生EMT转化或促进发生EMT转化的肿瘤细胞发生EMT逆转化, 就可以阻止肿瘤细胞获得干性而导致的转移复发及耐药, 这有望成为未来治疗肿瘤的新靶点, 增加放化疗的敏感性.

4 EMT使结直肠肿瘤细胞获得干细胞特性的分子基础

大量研究证实许多肿瘤细胞发生EMT的同时也获得了干细胞特性, 说明EMT与肿瘤细胞干性获得之间拥有某些相同的分子调节, 某些信号通路共存, 最后调控某些相同的基因. 其中, microRNAs(miRNAs)的调节有着很重要的作用, 某些主要的信号通路及微环境中各种成分

的调节共同诱导EMT的发生, 并促进肿瘤细胞干性的获得。

4.1 miRNAs的调节 miRNAs是在真核生物中发现的非编码RNA, 大约调控着30%的人类基因蛋白编码, 在胚胎发育、细胞的分裂增殖、分化及凋亡、肿瘤的发生发展及侵袭转移等生物学进程中发挥着至关重要的作用^[29]。最近研究^[30]表明miRNAs不但调控着EMT还参与了正常干细胞及肿瘤干细胞干性的维持、肿瘤细胞的异常转化、增殖及分化。虽然目前对miRNAs在多种肿瘤的发生发展中对EMT转化和干细胞干性维持的研究较多, 但有关miRNAs在结直肠癌中同时诱导EMT并使肿瘤干细胞获得干性的研究较少。在结肠癌干细胞中抑制其干细胞特性, 促进其分化的miRNAs包括miR-200、miR-145、miR-203、miR34、miR-29c等; 而维持其干性, 促进生长的miRNAs包括miR-21、miR-302等。具有明显诱导上皮性分化且能抑制干细胞特性的miR-200家族和EMT转录因子之间存在的负反馈循环被认为是肿瘤干细胞与EMT存在联系的分子机制。miR-200家族成员(miR429、miR141、miR200a、miR200b和miR200c)中的miR-200c、miR-141和miR-203能直接调节E-Cadherin的转录抑制因子Zeb1和Zeb2的表达, miR-200的过表达可上调E-Cadherin在肿瘤细胞系里的表达并降低细胞的移动性, 可逆转EMT, 诱发间质细胞上皮转化^[31]。Lu等^[32]利用基因敲除miR-200c发现能明显增加结直肠癌细胞的增殖、转移及侵袭能力, 同时也增加结直肠癌干细胞表面标志物Sox2的表达和结直肠癌细胞的成球能力, 进一步研究证实miR-200c可能是通过磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidyl inositol 3-kinase, PI3K)-Akt途径抑制Sox2的表达。在结肠癌中, miR-200a的表达不仅调控着结肠癌细胞的EMT和干性的获得, 而且还决定着结肠癌患者的预后, 在miR-200a低表达的患者往往有一个不良的预后^[33]。另外, Yu等^[34]发现在结肠癌干细胞中miR-145低表达和miR-21高表达, 而miR-145可以明显抑制移植结肠癌细胞的SCID小鼠的肿瘤生长, 并抑制干细胞表面标志物CD44和Sox2的表达。同时研究^[35]发现miR-145能直接以N-Cadherin为目标, 降低N-Cadherin的表达, 从而抑制胃癌的侵袭和转移。在结肠癌干

细胞中, miR-203可以通过HA/CD44信号作用抑制肿瘤细胞干性的维持, 而miR-203自身又可被Snail和Zeb1抑制, Snail和Zeb1都是EMT的激动剂, 也是结直肠癌干细胞自我更新过程中必不可少的因素^[36,37]。Siemens等^[38]认为p53基因能通过miR-34家族下调Snail的表达, 在结直肠癌里能下调Slug和Zeb1。同时研究^[39]还发现miR-34能通过Notch信号途径抑制干细胞特性, 促进其分化, 并能下调抗凋亡基因Bcl-2的表达。在结直肠癌细胞系中miR-29c可以抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭及转移, 同时通过PI3K/AKT和糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthesis kinase-3 β , GSK-3 β)/ β -catenin信号途径抑制EMT发生^[40]。Reid等^[41]发现miR-21可以促进LIM1863大肠癌细胞发生TGF诱导的EMT过程。而Yu等^[42]利用稳定转染结肠癌细胞HCT-116使得miR-21过表达, 导致PDCD4和TGF β R2下调, β -catenin和T细胞因子/淋巴增强因子(T cell factor/lymphoid enhancer factor, TCF/LEF)活性水平、c-Myc和Cyclin-D的表达增加而增强肿瘤细胞干性, miR-21的下调可以增强荧光素酶-TGF β R2-3'端非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)的活性。在HCT-116T中转染TGF β R2使TCF/LEF荧光素酶的活性减低及 β -catenin、c-Myc和Cyclin-D的表达降低。miR-302基因簇受Oct4/Sox2-miR-302-Cyclin D1调控网络调控, 是最早在胚胎干细胞中发现的miRNA, 他在胚胎干细胞中高表达, 随着细胞分化表达逐渐下降, 在成体细胞中低表达甚至不表达, 主要在胚胎发育早期干细胞的全能性和干性维持中发挥重要作用^[43]。总之, 已经发现有多个miRNAs同时参与了EMT和肿瘤干细胞干性的维持, 但具体机制仍不清楚, 还需进一步研究, 这有待将miRNAs作为一个治疗的靶点从而干预EMT的转化和干性的维持, 这在临床治疗上将会是一个很大的进步。

4.2 信号通路

4.2.1 Wnt信号通路: Wnt信号通路不但调节着细胞的EMT转化, 同时也参与了干细胞的自我更新和成体组织的稳定的维持。经典的Wnt信号通路是细胞外Wnt蛋白配体(人类发现有19个成员)和细胞膜上的受体Frizzled和LRP5/6(非典型的七螺旋G蛋白偶联受体)结合^[44], 启动Wnt信号, 然后将信号传递给

■创新盘点

有关肿瘤细胞发生EMT转化及干细胞特性获得的文章较多, 但在结直肠癌肿瘤中肿瘤细胞发生EMT并获得干细胞特性, 并促进结直肠癌肿瘤细胞发生侵袭、转移、耐药、复发等具体机制的系统描述较少, 本文从microRNAs的调节、信号通路、肿瘤细胞微环境等方面综述了EMT在结直肠癌肿瘤细胞中干细胞特性获得的研究进展。

应用要点

与传统的治疗模式相比, EMT和肿瘤干细胞之间的分子通路可能作为新的治疗靶点来改善肿瘤结局。或者在肿瘤细胞发生EMT导致转移及耐药之前就采取措施干预使肿瘤细胞发生MET转换, 使上皮细胞重新恢复正常上皮形态, 这或许为未来的研究领域提供新方向。

Dishevelled(Dvl), Dvl会抑制GSK-3 β 的活性。当细胞缺乏Wnt信号时, GSK-3 β 与Axin、APC(adenomatous polyposis coli)共同组成一个破坏性复合物^[45], GSK-3 β 磷酸化 β -catenin, 然后通过泛素化, 再被蛋白酶体摄取及降解, 当Wnt信号抑制GSK-3 β , β -catenin不能被磷酸化而在胞浆内不断累积, 然后进入细胞核后与转录因子TCF/LEF结合形成复合物, 从而调控Wnt靶基因的转录。细胞内Wnt/ β -catenin信号途径在多细胞生物里是高度保守的^[46]。 β -catenin是一种多功能蛋白, 结合E-Cadherin参与了细胞间的黏附作用^[47]。也就假设他能干扰黏连蛋白和连接蛋白的复合物从而参与了上皮来源恶性肿瘤的进展。Wnt/ β -catenin信号途径的异常激活通过维持肿瘤干细胞的干性与恶性肿瘤的发生发展密切相关^[48]。Han等^[49]发现在结肠癌HCT116和HT29细胞系成球细胞中GSK3 β 的表达下调, 而EMT转录因子Slug和Snail的表达上调, β -catenin在成球细胞中表达上调说明未被磷酸化的 β -catenin从细胞质进入细胞核, 该研究表明成球的肿瘤细胞具有干细胞特性, EMT可能导致了细胞干性的获得, 持续的Wnt/ β -catenin信号通路的激活在结肠癌干细胞的EMT转化中起着重要作用。Cheng等^[50]在 β -catenin shRNA抑制的试验中发现成球细胞干细胞表面标志物CD9、CD24、CD44、CD90和CD133的表达上调, 故认为Wnt/ β -catenin信号通路能调节肿瘤细胞的自我更新并在细胞多能干细胞基因的调控里占主要地位。

4.2.2 Notch信号通路: Notch信号通路既能调控肿瘤干细胞的形成也能促使EMT表型的获得, 且都与耐药相关, 主要传递分化抑制信号。Notch信号通路的异常激活还可导致异常的EMT, 从而使正常上皮中的细胞丧失上皮特性并向肿瘤细胞方向演进, 诱发恶性淋巴瘤、白血病、乳癌等的产生, 并对肿瘤细胞耐药性的产生具有重要作用^[51]。Notch有5个经典的跨膜配体[分别是Delta-like(DLL)1、DLL3、DLL4、Jagged-1和Jagged-2], 他们分别与相应的受体结合而激活Notch通路。Notch信号对鳞状上皮细胞的有序分化至关重要, Notch-1的丢失可致上皮细胞屏障的丢失, 使上皮细胞恶性转化^[52]。Notch通过调控Snail促进EMT, 他结合E-Cadherin启动子的E-boxs

盒而抑制E-Cadherin基因的表达^[53]。在结肠癌细胞中Notch-1能增加EMT/干性相关蛋白CD44、Slug、Smad-1等的表达^[54]。研究^[32]发现TGF- β 能诱导Jagged-1的表达, 而EMT的转录因子Zeb1可以提高Jagged-1的表达而激活Notch通路。

4.2.3 Hedgehog信号通路: 1980年Nüsslein-Volhard等^[55]首次在果蝇中发现Hedgehog(Hh)突变体表型。Hedgehog信号通路参与了细胞分化、增殖、组织极性、干性维持和肿瘤发生。Hh通路在维持组织极性和干细胞群起着重要作用。在2012年, 美国食品和药物监督管理局批准了一种新型的药: 选择性的Hh信号抑制剂GDC-0449(Erivedge/vismodegib)用来治疗局部晚期或转移性基底细胞癌^[56]。说明通过抑制Hh信号可以抑制晚期肿瘤侵袭及转移。Hedgehog信号通路还参与了胚胎干细胞和成体干细胞分化和增殖的调控, 他激活Hedgehog信号通路导致干细胞的发生和肿瘤发展^[57]。最近研究^[58]表明Hedgehog信号的激活可使正常干细胞进入异常的增殖周期, 促进EMT及肿瘤干细胞表型的获得, 从而导致食管癌、胃癌、结肠癌、肝癌等消化细胞肿瘤和人基底细胞癌等系统肿瘤的发生发展。

4.2.4 PI3K/Akt/mTOR信号通路: 许多证据都表明磷酸肌醇-3激酶(phosphatidylinositol-3-kinases, PI3K)信号通路在肿瘤干细胞生物学和EMT中占着重要的作用。PI3K/Akt信号通路的激活在结直肠癌的发生发展相关。PI3K/Akt的下游效应分子mTOR调控着结直肠肿瘤细胞的恶性增殖^[59]。在结直肠癌晚期mTOR表达增加, 说明mTOR信号在结直肠癌的进展和转移有关, Gulhati等^[60]通过抑制mTOR发行可降低结肠癌细胞的侵袭和转移同时伴随着细胞骨架的重构, 诱导细胞发生间质上皮转化。Han等^[61]也证实利用miR-21的拮抗剂可以通过灭活Akt, 以PTEN为作用靶点, 通过PI3K-Akt途径逆转EMT和肿瘤干细胞表型。Feng等^[62]在结直肠中发现白血病造血前体B细胞转录因子作用蛋白可以通过激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)/2和PI3K/Akt途径促进结直肠癌细胞的增殖、转移和EMT转化。通过蛋白组学分析发现miR-1可以抑制Akt磷酸化而调节细

胞的关键分子, 通过PI3K/Akt途径使结直肠癌细胞发生EMT转化并获得干细胞特性^[63]。

4.3 微环境 干细胞微环境是干细胞寄居且能维持其自我更新和去分化等属性的特殊环境, 由相关的黏附分子、胞外基质、信号分子、多种细胞及酸性和低氧等多种成分组成。不同干细胞的微环境成分不同, 通过构建适当的信号来维持微环境中的炎症、EMT、低氧及血管生成的平衡。干细胞微环境可通过控制干细胞增殖或凋亡而促进或抑制肿瘤的发生, 干细胞微环境的丢失或改变是导致正常干细胞分化异常成瘤的重要因素之一^[64]。处于微环境中的低氧诱导因子(hypoxia-inducible factors, HIF)在干细胞异常分化和肿瘤细胞表型形成过程中起到一定的作用。特别是HIF-1不仅可以调节结直肠癌细胞的存活增殖和代谢, 还可以通过激活转录因子Twist、Snail、Slug、Sip1和Zeb1的表达诱导上皮E-Cadherin的下调, 间质细胞标志物上调^[21]。在缺氧的条件下, 结直肠癌细胞获得EMT的特征, 伴随着明显的形态学和功能的变化, 通过上调整合蛋白 $\alpha 2$ 、 $\alpha 5$ 、 $\beta 1$ 、胶原蛋白和纤维连接蛋白的表达, 癌细胞离开原来的缺氧环境进入周围有氧环境中, 然后上调趋化因子受体4的表达, 迁移至富有基质细胞衍生因子的器官形成结直肠癌的远处转移^[65]。

5 EMT、CSCs与耐药

随着越来越多的研究表明肿瘤细胞发生EMT转化和CSCs是导致治疗耐受的主要原因, 以CSCs为治疗靶点来提高肿瘤患者治疗效果的治疗策略也逐步受到重视, 尽管有许多以CSCs作为靶点的治疗药物试验已处于临床前期阶段或甚至已经进入了临床应用, 但是以CSCs作为直接治疗靶点还是比较困难, 因为其在实际上在肿瘤中只代表了一小部分的肿瘤细胞, 所以进一步理解EMT、CSCs提高肿瘤存活率的关键分子机制及信号通路为提供新的治疗靶点带来希望。首先, 在通常情况下, 大部分肿瘤干细胞都处于休眠状态, 并能高表达抗凋亡蛋白而抵抗肿瘤细胞凋亡、促进生长及增殖。结肠癌干细胞能表达*Bcrp1/ABCG2*基因, 这类基因表达指导在细胞膜上形成膜转运蛋白(transporter), 这类ABC基因家族的膜蛋白转运能力极强, 可以将细胞毒性物质核苷酸类的

细胞介导物干扰素等化疗药物排出细胞外, 降低细胞内的药物浓度, 使抗癌药物不能充分发挥作用, 表现为极强的耐药性^[66]。其次, 肿瘤干细胞具有很强的DNA修复的作用, 可使其在自我更新和增殖的过程当中造成化疗药物恶性突变并不断积累, 再传递给其子代细胞, 从而拥有更强的耐药性^[66]。再次, 特殊微环境的保护也可帮助细胞多渠道逃脱药物的杀伤作用, 从而导致肿瘤复发转移和治疗失败^[67]。已有相关研究表明EMT与胰腺癌抗吉西他滨、结直肠癌抗奥沙利铂、乳腺癌抗拉帕替尼、卵巢癌抗紫杉醇等有关, 阐明癌细胞中EMT获得的机制对制定针对性的治疗去克服或阻止传统抗癌治疗耐受对临床治疗帮助极大。

6 结论

当肿瘤细胞发生EMT时不但和肿瘤细胞的侵袭和转移直接相关, 同时也促进了肿瘤细胞获得干细胞特性, 共同调节着肿瘤细胞的存活、侵袭、转移及抗放化疗。目前, 具有肿瘤侵略性生物学行为的EMT和肿瘤干细胞之间存在的必然联系在多个器官系统中被证实, 但具体机制还不太清楚。因此, 随着未来研究的深入, 进一步阐述EMT提高细胞间的迁移和改善细胞的存活从而增加肿瘤细胞侵袭和转移的动态过程, 以及促使肿瘤细胞获得干细胞特性的具体机制, 从而改善肿瘤治疗中所遇到的肿瘤转移、复发及耐药等难题。

7 参考文献

- DeSantis CE, Lin CC, Mariotto AB, Siegel RL, Stein KD, Kramer JL, Alteri R, Robbins AS, Jemal A. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 252-271 [PMID: 24890451 DOI: 10.3322/caac.21235]
- Roy S, Majumdar AP. Signaling in colon cancer stem cells. *J Mol Signal* 2012; 7: 11 [PMID: 22866952 DOI: 10.1186/1750-2187-7-11]
- Fan F, Samuel S, Evans KW, Lu J, Xia L, Zhou Y, Sceusi E, Tozzi F, Ye XC, Mani SA, Ellis LM. Overexpression of snail induces epithelial-mesenchymal transition and a cancer stem cell-like phenotype in human colorectal cancer cells. *Cancer Med* 2012; 1: 5-16 [PMID: 23342249 DOI: 10.1002/cam4.4]
- Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15: 178-196 [PMID: 24556840 DOI: 10.1038/nrm3758]
- De Craene B, Bex G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 97-110 [PMID: 23344542 DOI: 10.1038/nrn3758]

■名词解释

microRNAs: 是在真核生物中发现的一类内源性的可调控信使RNA翻译稳定性及效率的非编码RNA, 其大小长约18-25个核苷酸, 具有高度保守性、时序性和组织特异性, 参与基因表达的转录及转录后调控导致靶mRNA翻译抑制或降解, 特别是以与3'端非翻译区互补性结合为基础。

同行评价

该文综述的内容丰富、全面, 参考文献新, 对研究结直肠肿瘤的侵袭、转移、耐药、复发及临床治疗靶点有一定的科学意义及实用价值。

- 10.1038/nrc3447]
- 6 Thierry JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009; 139: 871-890 [PMID: 19945376 DOI: 10.1016/j.cell.2009.11.007]
- 7 Shackleton M, Quintana E, Fearon ER, Morrison SJ. Heterogeneity in cancer: cancer stem cells versus clonal evolution. *Cell* 2009; 138: 822-829 [PMID: 19737509 DOI: 10.1016/j.cell.2009.08.017]
- 8 Mathieu J, Ruohola-Baker H. Regulation of stem cell populations by microRNAs. *Adv Exp Med Biol* 2013; 786: 329-351 [PMID: 23696365 DOI: 10.1007/978-94-007-6621-1_18]
- 9 Krivtsov AV, Twomey D, Feng Z, Stubbs MC, Wang Y, Faber J, Levine JE, Wang J, Hahn WC, Gilliland DG, Golub TR, Armstrong SA. Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9. *Nature* 2006; 442: 818-822 [PMID: 16862118]
- 10 Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, Brooks M, Reinhard F, Zhang CC, Shipitsin M, Campbell LL, Polyak K, Briskin C, Yang J, Weinberg RA. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008; 133: 704-715 [PMID: 18485877 DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.027]
- 11 Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP, Pestell RG. Cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 2144-2151 [PMID: 22981632 DOI: 10.1016/j.biocel.2012.08.022]
- 12 Cherciu I, Bărbălan A, Pirici D, Mărgăritescu C, Săftoiu A. Stem cells, colorectal cancer and cancer stem cell markers correlations. *Curr Health Sci J* 2014; 40: 153-161 [PMID: 25729599 DOI: 10.12865/CHSJ.40.03.01]
- 13 Ricci-Vitiani L, Fabrizio E, Palio E, De Maria R. Colon cancer stem cells. *J Mol Med (Berl)* 2009; 87: 1097-1104 [PMID: 19727638 DOI: 10.1007/s00109-009-0518-4]
- 14 Fanali C, Lucchetti D, Farina M, Corbi M, Cufino V, Cittadini A, Sgambato A. Cancer stem cells in colorectal cancer from pathogenesis to therapy: controversies and perspectives. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 923-942 [PMID: 24574766 DOI: 10.3748/wjg.v20.i4.923]
- 15 Pattabiraman DR, Weinberg RA. Tackling the cancer stem cells - what challenges do they pose? *Nat Rev Drug Discov* 2014; 13: 497-512 [PMID: 24981363 DOI: 10.1038/nrd4253]
- 16 Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, Minden M, Paterson B, Caligiuri MA, Dick JE. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994; 367: 645-648 [PMID: 7509044]
- 17 Yu Z, Baserga R, Chen L, Wang C, Lisanti MP, Pestell RG. microRNA, cell cycle, and human breast cancer. *Am J Pathol* 2010; 176: 1058-1064 [PMID: 20075198 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090664]
- 18 Rao CV, Mohammed A. New insights into pancreatic cancer stem cells. *World J Stem Cells* 2015; 7: 547-555 [PMID: 25914762 DOI: 10.4252/wjsc.v7.i3.547]
- 19 Slattey ML, Wolff E, Hoffman MD, Pellatt DF, Milash B, Wolff RK. MicroRNAs and colon and rectal cancer: differential expression by tumor location and subtype. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 196-206 [PMID: 21213373 DOI: 10.1002/gcc.20844]
- 20 Yamashita T, Honda M, Nakamoto Y, Baba M, Nio K, Hara Y, Zeng SS, Hayashi T, Kondo M, Takatori H, Yamashita T, Mizukoshi E, Ikeda H, Zen Y, Takamura H, Wang XW, Kaneko S. Discrete nature of EpCAM+ and CD90+ cancer stem cells in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2013; 57: 1484-1497 [PMID: 23174907 DOI: 10.1002/hep.26168]
- 21 Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 265-273 [PMID: 19262571 DOI: 10.1038/nrc2620]
- 22 Hwang WL, Yang MH, Tsai ML, Lan HY, Su SH, Chang SC, Teng HW, Yang SH, Lan YT, Chiou SH, Wang HW. SNAIL regulates interleukin-8 expression, stem cell-like activity, and tumorigenicity of human colorectal carcinoma cells. *Gastroenterology* 2011; 141: 279-291, 291.e1-e5 [PMID: 21640118 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.04.008]
- 23 Kirkland SC. Type I collagen inhibits differentiation and promotes a stem cell-like phenotype in human colorectal carcinoma cells. *Br J Cancer* 2009; 101: 320-326 [PMID: 19568234 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605143]
- 24 Sarkar D, Shields B, Davies ML, Müller J, Wakeman JA. BRACHYURY confers cancer stem cell characteristics on colorectal cancer cells. *Int J Cancer* 2012; 130: 328-337 [PMID: 21365650 DOI: 10.1002/ijc.26029]
- 25 May CD, Sphyrin N, Evans KW, Werden SJ, Guo W, Mani SA. Epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells: a dangerously dynamic duo in breast cancer progression. *Breast Cancer Res* 2011; 13: 202 [PMID: 21392411 DOI: 10.1186/bcr2789]
- 26 Chiou SH, Wang ML, Chou YT, Chen CJ, Hong CF, Hsieh WJ, Chang HT, Chen YS, Lin TW, Hsu HS, Wu CW. Coexpression of Oct4 and Nanog enhances malignancy in lung adenocarcinoma by inducing cancer stem cell-like properties and epithelial-mesenchymal transdifferentiation. *Cancer Res* 2010; 70: 10433-10444 [PMID: 21159654 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 27 Tsai LL, Hu FW, Lee SS, Yu CH, Yu CC, Chang YC. Oct4 mediates tumor initiating properties in oral squamous cell carcinomas through the regulation of epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One* 2014; 9: e87207 [PMID: 24475251 DOI: 10.1371/journal.pone.0087207]
- 28 Yasui K, Shimamura M, Mitsutake N, Nagayama Y. SNAIL induces epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cell-like properties in aldehyde dehydrogenase-negative thyroid cancer cells. *Thyroid* 2013; 23: 989-996 [PMID: 23432420 DOI: 10.1089/thy.2012.0319]
- 29 Eini R, Dorssers LC, Looijenga LH. Role of stem cell proteins and microRNAs in embryogenesis and germ cell cancer. *Int J Dev Biol* 2013; 57: 319-332 [PMID: 23784843 DOI: 10.1387/ijdb.130020re]
- 30 Martinez NJ, Gregory RI. MicroRNA gene regulatory pathways in the establishment and maintenance of ESC identity. *Cell Stem Cell* 2010; 7:

- 31-35 [PMID: 20621047 DOI: 10.1016/j.stem.2010.06.011]
- 31 Brabletz S, Bajdak K, Meidhof S, Burk U, Niedermann G, Firat E, Wellner U, Dimmler A, Faller G, Schubert J, Brabletz T. The ZEB1/miR-200 feedback loop controls Notch signalling in cancer cells. *EMBO J* 2011; 30: 770-782 [PMID: 21224848 DOI: 10.1038/emboj.2010.349]
- 32 Lu YX, Yuan L, Xue XL, Zhou M, Liu Y, Zhang C, Li JP, Zheng L, Hong M, Li XN. Regulation of colorectal carcinoma stemness, growth, and metastasis by an miR-200c-Sox2-negative feedback loop mechanism. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 2631-2642 [PMID: 24658157 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2348]
- 33 Pichler M, Ress AL, Winter E, Stiegelbauer V, Karbiener M, Schwarzenbacher D, Scheideler M, Ivan C, Jahn SW, Kiesslich T, Gerger A, Bauernhofer T, Calin GA, Hoeffler G. MiR-200a regulates epithelial to mesenchymal transition-related gene expression and determines prognosis in colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2014; 110: 1614-1621 [PMID: 24504363 DOI: 10.1038/bjc.2014.51]
- 34 Yu Y, Nangia-Makker P, Farhana L, G Rajendra S, Levi E, Majumdar AP. miR-21 and miR-145 cooperation in regulation of colon cancer stem cells. *Mol Cancer* 2015; 14: 98 [PMID: 25928322 DOI: 10.1186/s12943-015-0372-7]
- 35 Gao P, Xing AY, Zhou GY, Zhang TG, Zhang JP, Gao C, Li H, Shi DB. The molecular mechanism of microRNA-145 to suppress invasion-metastasis cascade in gastric cancer. *Oncogene* 2013; 32: 491-501 [PMID: 22370644 DOI: 10.1038/onc.2012.61]
- 36 Guttilla IK, Phoenix KN, Hong X, Tirnauer JS, Claffey KP, White BA. Prolonged mammosphere culture of MCF-7 cells induces an EMT and repression of the estrogen receptor by microRNAs. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 132: 75-85 [PMID: 21553120 DOI: 10.1007/s10549-011-1534-y]
- 37 Ju SY, Chiou SH, Su Y. Maintenance of the stemness in CD44(+) HCT-15 and HCT-116 human colon cancer cells requires miR-203 suppression. *Stem Cell Res* 2014; 12: 86-100 [PMID: 24145190 DOI: 10.1016/j.scr.2013.09.011]
- 38 Siemens H, Jackstadt R, Hüntgen S, Kaller M, Menssen A, Götz U, Hermeking H. miR-34 and SNAIL form a double-negative feedback loop to regulate epithelial-mesenchymal transitions. *Cell Cycle* 2011; 10: 4256-4271 [PMID: 22134354 DOI: 10.4161/cc.10.24.18552]
- 39 Bu P, Chen KY, Chen JH, Wang L, Walters J, Shin YJ, Goerger JP, Sun J, Witherspoon M, Rakhilin N, Li J, Yang H, Milsom J, Lee S, Zipfel W, Jin MM, Gümüş ZH, Lipkin SM, Shen X. A microRNA miR-34a-regulated bimodal switch targets Notch in colon cancer stem cells. *Cell Stem Cell* 2013; 12: 602-615 [PMID: 23642368 DOI: 10.1016/j.stem.2013.03.002]
- 40 Zhang JX, Mai SJ, Huang XX, Wang FW, Liao YJ, Lin MC, Kung HF, Zeng YX, Xie D. MiR-29c mediates epithelial-to-mesenchymal transition in human colorectal carcinoma metastasis via PTP4A and GNA13 regulation of β -catenin signaling. *Ann Oncol* 2014; 25: 2196-2204 [PMID: 25193986 DOI: 10.1093/annonc/mdu439]
- 41 Reid JF, Sokolova V, Zoni E, Lampis A, Pizzamiglio S, Bertan C, Zanutto S, Perrone F, Camerini T, Gallino G, Verderio P, Leo E, Pilotti S, Gariboldi M, Pierotti MA. miRNA profiling in colorectal cancer highlights miR-1 involvement in MET-dependent proliferation. *Mol Cancer Res* 2012; 10: 504-515 [PMID: 22343615 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-11-0342]
- 42 Yu Y, Kanwar SS, Patel BB, Oh PS, Nautiyal J, Sarkar FH, Majumdar AP. MicroRNA-21 induces stemness by downregulating transforming growth factor beta receptor 2 (TGF β R2) in colon cancer cells. *Carcinogenesis* 2012; 33: 68-76 [PMID: 22072622 DOI: 10.1093/carcin/bgr246]
- 43 Card DA, Hebbar PB, Li L, Trotter KW, Komatsu Y, Mishina Y, Archer TK. Oct4/Sox2-regulated miR-302 targets cyclin D1 in human embryonic stem cells. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 6426-6438 [PMID: 18710938 DOI: 10.1128/MCB.00359-08]
- 44 Dijksterhuis JP, Petersen J, Schulte G. WNT/ Frizzled signalling: receptor-ligand selectivity with focus on FZD-G protein signalling and its physiological relevance: IUPHAR Review 3. *Br J Pharmacol* 2014; 171: 1195-1209 [PMID: 24032637 DOI: 10.1111/bph.12364]
- 45 Liu C, Li Y, Semenov M, Han C, Baeg GH, Tan Y, Zhang Z, Lin X, He X. Control of beta-catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism. *Cell* 2002; 108: 837-847 [PMID: 11955436]
- 46 Kikuchi A, Yamamoto H, Sato A. Selective activation mechanisms of Wnt signaling pathways. *Trends Cell Biol* 2009; 19: 119-129 [PMID: 19208479 DOI: 10.1016/j.tcb.2009.01.003]
- 47 Kikuchi A, Yamamoto H, Sato A, Matsumoto S. New insights into the mechanism of Wnt signaling pathway activation. *Int Rev Cell Mol Biol* 2011; 291: 21-71 [PMID: 22017973 DOI: 10.1016/B978-0-12-386035-4.00002-1]
- 48 Nguyen LV, Vanner R, Dirks P, Eaves CJ. Cancer stem cells: an evolving concept. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 133-143 [PMID: 22237392 DOI: 10.1038/nrc3184]
- 49 Han XY, Wei B, Fang JF, Zhang S, Zhang FC, Zhang HB, Lan TY, Lu HQ, Wei HB. Epithelial-mesenchymal transition associates with maintenance of stemness in spheroid-derived stem-like colon cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e73341 [PMID: 24039918 DOI: 10.1371/journal.pone.0073341]
- 50 Cheng Y, Cheung AK, Ko JM, Phoon YP, Chiu PM, Lo PH, Waterman ML, Lung ML. Physiological β -catenin signaling controls self-renewal networks and generation of stem-like cells from nasopharyngeal carcinoma. *BMC Cell Biol* 2013; 14: 44 [PMID: 24073846 DOI: 10.1186/1471-2121-14-44]
- 51 Espinoza I, Pochampally R, Xing F, Watabe K, Miele L. Notch signaling: targeting cancer stem cells and epithelial-to-mesenchymal transition. *Onco Targets Ther* 2013; 6: 1249-1259 [PMID: 24043949 DOI: 10.2147/OTT.S36162]
- 52 Ota T, Takekoshi S, Takagi T, Kitatani K, Toriumi K, Kojima T, Kato M, Ikoma N, Mabuchi T, Ozawa A.

- Notch signaling may be involved in the abnormal differentiation of epidermal keratinocytes in psoriasis. *Acta Histochem Cytochem* 2014; 47: 175-183 [PMID: 25392571 DOI: 10.1267/ahc.14027]
- 53 Becker KF, Rosivatz E, Blechschmidt K, Kremmer E, Sarbia M, Höfler H. Analysis of the E-cadherin repressor Snail in primary human cancers. *Cells Tissues Organs* 2007; 185: 204-212 [PMID: 17587826]
- 54 Fender AW, Nutter JM, Bertrand FE, Sigounas G. Notch-1 Promotes Stemness and Epithelial to Mesenchymal Transition in Colorectal Cancer. *J Cell Biochem* 2015 Apr 25. [Epub ahead of print] [PMID: 25914224 DOI: 10.1002/jcb.25196]
- 55 Nüsslein-Volhard C, Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 1980; 287: 795-801 [PMID: 6776413]
- 56 Xie J, Bartels CM, Barton SW, Gu D. Targeting hedgehog signaling in cancer: research and clinical developments. *Onco Targets Ther* 2013; 6: 1425-1435 [PMID: 24143114 DOI: 10.2147/OTT.S34678]
- 57 Medina V, Calvo MB, Díaz-Prado S, Espada J. Hedgehog signalling as a target in cancer stem cells. *Clin Transl Oncol* 2009; 11: 199-207 [PMID: 19380296]
- 58 Dandawate P, Padhye S, Ahmad A, Sarkar FH. Novel strategies targeting cancer stem cells through phytochemicals and their analogs. *Drug Deliv Transl Res* 2013; 3: 165-182 [PMID: 24076568 DOI: 10.1007/s13346-012-0079-x]
- 59 Rychahou PG, Kang J, Gulhati P, Doan HQ, Chen LA, Xiao SY, Chung DH, Evers BM. Akt2 overexpression plays a critical role in the establishment of colorectal cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 20315-20320 [PMID: 19075230 DOI: 10.1073/pnas.0810715105]
- 60 Gulhati P, Cai Q, Li J, Liu J, Rychahou PG, Qiu S, Lee EY, Silva SR, Bowen KA, Gao T, Evers BM. Targeted inhibition of mammalian target of rapamycin signaling inhibits tumorigenesis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 7207-7216 [PMID: 19934294 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1249]
- 61 Han M, Liu M, Wang Y, Chen X, Xu J, Sun Y, Zhao L, Qu H, Fan Y, Wu C. Antagonism of miR-21 reverses epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotype through AKT/ERK1/2 inactivation by targeting PTEN. *PLoS One* 2012; 7: e39520 [PMID: 22761812 DOI: 10.1371/journal.pone.0039520]
- 62 Feng Y, Xu X, Zhang Y, Ding J, Wang Y, Zhang X, Wu Z, Kang L, Liang Y, Zhou L, Song S, Zhao K, Ye Q. HPIP is upregulated in colorectal cancer and regulates colorectal cancer cell proliferation, apoptosis and invasion. *Sci Rep* 2015; 5: 9429 [PMID: 25800793 DOI: 10.1038/srep09429]
- 63 Xu L, Zhang Y, Wang H, Zhang G, Ding Y, Zhao L. Tumor suppressor miR-1 restrains epithelial-mesenchymal transition and metastasis of colorectal carcinoma via the MAPK and PI3K/AKT pathway. *J Transl Med* 2014; 12: 244 [PMID: 25196260 DOI: 10.1186/s12967-014-0244-8]
- 64 Cabarcas SM, Mathews LA, Farrar WL. The cancer stem cell niche--there goes the neighborhood? *Int J Cancer* 2011; 129: 2315-2327 [PMID: 21792897 DOI: 10.1002/ijc.26312]
- 65 Hongo K, Tsuno NH, Kawai K, Sasaki K, Kaneko M, Hiyoshi M, Muro K, Tada N, Nirei T, Sunami E, Takahashi K, Nagawa H, Kitayama J, Watanabe T. Hypoxia enhances colon cancer migration and invasion through promotion of epithelial-mesenchymal transition. *J Surg Res* 2013; 182: 75-84 [PMID: 22959209 DOI: 10.1016/j.jss.2012.08.034]
- 66 Ding XW, Wu JH, Jiang CP. ABCG2: a potential marker of stem cells and novel target in stem cell and cancer therapy. *Life Sci* 2010; 86: 631-637 [PMID: 20159023 DOI: 10.1016/j.lfs.2010.02.012]
- 67 Castillo V, Valenzuela R, Huidobro C, Contreras HR, Castellon EA. Functional characteristics of cancer stem cells and their role in drug resistance of prostate cancer. *Int J Oncol* 2014; 45: 985-994 [PMID: 24990514 DOI: 10.3892/ijo.2014.2529]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

