

ZEB 家族调节上皮 - 间质转化的作用机制

沈 灵 辛天池 李明发*

(上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240)

摘要 上皮 - 间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是具有极性、相互粘连的上皮细胞转换为具有活动能力、能够在细胞基质间自由移动的间质细胞的过程, EMT 在正常胚胎发育和肿瘤细胞的侵袭和转移过程中都扮演着重要的角色。最近的研究结果发现, E 盒结合锌指蛋白(zinc finger E-box-binding protein, ZEB)家族是 EMT 的诱导因素之一。ZEB 在转录水平直接或者间接地抑制了 E- 钙粘着蛋白等粘附蛋白和一系列极性蛋白的表达, 促进了上皮细胞向间质细胞的转换; 同时 ZEB 不仅受到 TGF β 、Snail、NF- κ B、缺氧(hypoxia)等众多信号的调节, miR-200 等小 RNA 也能在转录后调节 ZEB 的表达, 可逆性调控 EMT。

关键词 上皮 - 间质转化; E 盒结合锌指蛋白; E- 钙粘着蛋白

1 上皮 - 间质转化的概念和分子学标志

上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)作为胚胎发育的必需过程, 最早在二十世纪初被发现。在 EMT 过程中上皮细胞获得成纤维细胞的特性, 如细胞极性丧失, 细胞间粘着降低, 运动性增强。EMT 存在于多种形态发生过程中, 如原肠胚形成, 器官发生, 组织重构, 伤口愈合等^[1]。此外, 在动物的肿瘤中也发现了 EMT 的现象, 如侵袭性增强等, 多种正常发育过程中 EMT 发生所需的基因, 也会促进肿瘤发生过程中的 EMT 现象^[2]。

EMT 的发生通常伴随多种分子标志的变化, 如上皮细胞钙粘着蛋白(E-cadherin)表达下调, 神经性钙粘着蛋白(N-cadherin)和波形蛋白(vimentin)表达增加, β -连环蛋白(β -catenin)入核等^[3]。其中 E- 钙粘着蛋白的下调是最主要的标志。E- 钙粘着蛋白是细胞间粘连的最基本的调节因子, 它是典型的跨膜蛋白, 胞外结构域在 Ca²⁺ 的介导下, 与相邻细胞的 E- 钙粘着蛋白形成同源二聚体, 使细胞有序的排列; 胞内结构域与包括连环蛋白在内的多种细胞骨架蛋白结合。此外, E- 钙粘着蛋白还有调控转录的功能和抑制侵袭的功能^[4,5]。众多的研究表明, TGF β 、Wnt/ β -连环蛋白、Notch、Hedgehog、NF- κ B 等多种内源和外源信号均能调节 EMT 过程, 而它们的最终下游往往都是以 E- 钙粘着蛋白为代表的粘附分子^[6]。因此, 从 E- 钙粘着蛋白表达入手, 研究其调控因素有助于将各条经典的信号转导途径与 EMT 最终的表型和特征联系起来, 阐明各种信号在发育或癌变过程中起的作用。

近年来, 大量的研究结果表明, E 盒结合锌指蛋

白(zinc finger E-box-binding protein, ZEB)在生理条件或是病理条件下都参与了 EMT 的调节过程, ZEB 家族成员能在转录水平调节 E- 钙粘着蛋白等细胞粘附分子或细胞极性分子表达, 增强细胞的迁移能力, 进而影响 EMT 的发生和维持。并且 ZEB 与其他调节 EMT 的因素相互关联, 形成了复杂而有效的调控网络。本文将详述 ZEB 家族诱导 EMT 的作用及其分子调控机制。

2 ZEB 家族的结构和功能

ZEB 家族属于锌指蛋白类, 包括两个成员: ZEB1 和 ZEB2。ZEB1 又称为锌指 - 含同源框转录调节因子 delta- 球蛋白增强子 1 (δ EF1), ZEB2 又称为 Smad 结合蛋白 1 (SIP1), 它们分别由 *Zfx1a* 和 *Zfx1b* 基因编码。ZEB1 和 ZEB2 结构相似, 都是由一段可变的序列将两个锌指簇连接。N 端锌指簇(NZF)包含 3 个 CCHH 锌指, 1 个 CCHC 锌指; C 端锌指簇(CZF)包含 3 个 CCHH 锌指, ZEB2 和 ZEB1 的 NZF 和 CZF 相似程度分别为 89% 和 95%, 中间可变区域保守程度较低。ZEB2 和 ZEB1 双侧的锌指簇能与包含 CACCT(G)或 (C)AGGTG (E 盒)序列的 DNA 结合, 从而调节靶基因的转录, 并且双侧的同时结合是其发挥功能的必要条件。ZEB 对其靶基因序列中 2 个 E 盒之间的距离没有明显的要求, 2 个 E 盒序列的方向也不影响 ZEB 的

收稿日期: 2009-05-11 接受日期: 2009-11-18

上海市浦江人才计划资助项目(No.05PJ14075)

* 通讯作者。Tel: 021-34204918, Fax: 021-34205709, E-mail:

mfli@sjtu.edu.cn

结合^[7, 8] (图 1)^[9,10]。

3 ZEB 促进 EMT 的发生

众多的体外和体内实验都表明 ZEB 对 EMT 有重要的调节作用。在培养的细胞中过表达 ZEB1 能下调上皮细胞连接蛋白 ZO-1、E-钙粘着蛋白和桥粒斑蛋白(desmoplakin)的表达并导致这些蛋白质在细胞质中的异常定位;显著诱导间质细胞标志蛋白波形蛋白的表达;上调具有促细胞移动能力的 N-钙粘着蛋白水平^[11]。在 MDCK 细胞系中诱导表达 ZEB2, 然后平铺在琼脂上, 24 h 之后细胞与细胞聚集减弱, 48 h 后完全丧失;诱导 ZEB2 使 MDCK 细胞在胶原蛋白 I 上侵袭能力明显提高。这些结果表明, 在上皮细胞中表达 ZEB1 或者 ZEB2 足以诱导出 EMT 的大部分特性^[12]。

在鸡和小鼠发育至神经胚阶段时, ZEB1 和 ZEB2 在部分中胚层中表达量上升, 而在将来要发育为上皮组织的内胚层和外胚层中始终没有明显的表达^[13]。当小鼠胚胎发育到 8.5 天, 脑部将要转移的或者正在

移动的神神经嵴细胞中 ZEB2 表达量很高, 这些细胞沿着腹外侧途径从神经褶移动到胚胎中不同的体节位置, 发育成中枢神经、迷走神经和骶神经等。而在 *Zfhx1b* 基因敲除的小鼠胚胎中, 神经嵴细胞仍然以聚集形式停留在神经外胚层表面, 没有明显的脱离和移动。*Zfhx1b* 纯合突变的小鼠胚胎在 9.5 天时生长停滞, 杂合突变则会导致神经管无法闭合, 第一对鳃弓缺失。人类 *Zfhx1b* 基因杂合突变导致的 Hirschsprung 症也可能是通过相似的机制而发生的^[14]。此外, ZEB1 突变会导致小鼠多种间质细胞呈现 E-钙粘着蛋白异常表达, 波形蛋白下调等间质-上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET)特征, 小鼠胚胎出现各种发育缺陷^[15]。

另外, 在人类的卵巢癌、胃癌、胰腺癌、鳞状细胞癌中 ZEB2 都被发现有异常表达; 同样, ZEB1 的过量表达也是子宫癌、结肠癌的标志之一。ZEB 成员在各种癌症中的表达, 往往与肿瘤的恶性转移、不良的诊断预后、较低的存活率相关联^[12]。

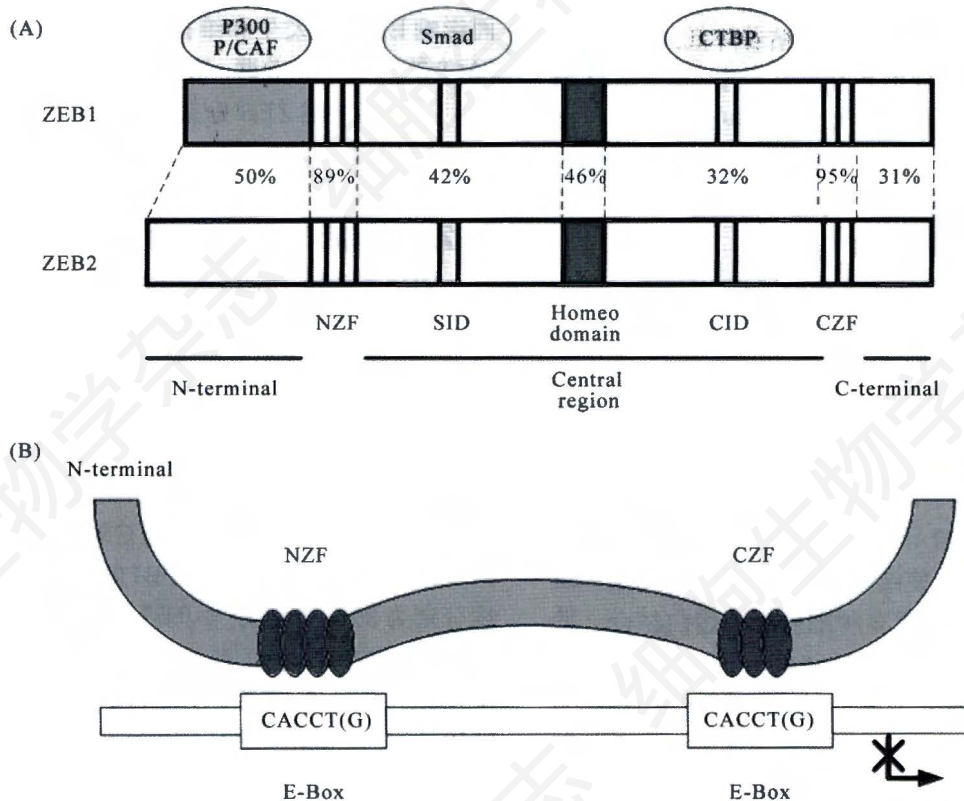


Fig.1 Domain structure of ZEB1/ZEB2 and the mechanism of transcriptional regulation^[9,10]

A: ZEB1 and ZEB2 display sequence similarities. They both contain conserved zinc finger clusters, Smad and CTBP interaction domains. The N-terminal region of ZEB1 serves as a p300-p/CAF-binding domain; B: ZEB binds to two conserved E2 boxes through NZF/CZF and represses the activity of target promoters.

4 ZEB 诱导 EMT 的分子调控机制(图 2)

4.1 ZEB 调节 EMT 靶基因的表达

ZEB 家族在 EMT 中最主要的调控对象是 E-钙粘着蛋白。在 E-钙粘着蛋白阳性 MDCK 细胞中高表达 ZEB2 导致 E-钙粘着蛋白量明显下调, 并且使细胞失去细胞粘连, 同时诱导出侵袭的现象^[12]。在哺乳动物上皮细胞中异位表达 ZEB1 也会引起内源的 E-钙粘着蛋白 mRNA 和蛋白质量下降^[11]。ZEB1 和 ZEB2 都能与位于 E-钙粘着蛋白编码基因 CDH1 启动子上的 E2 盒 [CACCT(G)] 结合, 从而抑制 E-钙粘着蛋白的转录^[7,12]。CDH1 启动子 E2 盒发生突变能够消除 ZEB1 和 ZEB2 对 CDH1 表达的抑制作用, ZEB 锌指结构域的突变也能抑制相应细胞系在体外的侵袭能力, 表明锌指结构域与 E 盒的结合是 ZEB 调节 E-钙粘着蛋白以及 EMT 所必需的^[8,11,16]。

ZEB 家族对 E-钙粘着蛋白的调节可能是在 C 末端结合蛋白(CTBP)的协助下完成的。ZEB1 和 ZEB2 都能在体外或生理条件下与 CTBP 形成复合体, 并且它们是通过其序列中特定结构域 PXDLS 与 CTBP 结合的^[17,18]。ZEB1 或 ZEB2/CTBP 复合体的形成能够促进 ZEB 的转录抑制功能, 独立的 PXDLS 片段必须通过 CTBP 的介导才具有相应的功能^[17,18]。在人类结肠癌中只有在 CTBP 保持一定表达水平的条件下, ZEB1 才与 E-钙粘着蛋白呈负相关关系^[19]。CTBP 与 ZEB 可能还存在非结合依赖的协同作用, 通过 MDCK 细胞培养发现, 即使在全长的 ZEB2 中突变相应的 CTBP 结合序列, ZEB2 仍然能够独立完成下调 E-钙粘着蛋白的功能, CTBP 中 ZEB 结合位点突变也不影响 ZEB 调节 E-钙粘着蛋白的效果^[17]。另一方面, 多梳蛋白(polycomb protein) Pc2 能在 ZEB2 的保守位点 Lys391 和 Lys866 对其进行泛素化, 泛素化不影响 ZEB2 的亚细胞定位, 但是能够阻止 CTBP 被其募集,

从而抑制 ZEB2 对 E-钙粘着蛋白的下调。突变上述两个保守位点会阻断 ZEB 的泛素化, 从而增强其下调 E-钙粘着蛋白的作用; 共同表达 ZEB2 和 Pc2 能在一定程度上缓解 ZEB2 的抑制作用^[16]。

近年来, 多个胞间连接蛋白被鉴定为 ZEB 的抑制调控靶标。其中, 胎盘钙粘蛋白(P-cadherin)、闭合蛋白 4 (claudin4) 和连接蛋白 26 (connexin26) 编码基因都含有 ZEB2 结合序列[CACCT(G)]: P-钙粘着蛋白启动子(531 bp)有 1 个 AGGTG 和 3 个 CACCTG 序列; 闭合蛋白 4 启动子(635 bp)有 1 个 CACCT 和 2 个 AGGTG; 连接蛋白 26 启动子(1 294 bp)包含 1 个 CACCT, 1 个 AGGTG 和 2 个 CAGGTG 序列。诱导 ZEB2 表达后进行染色体免疫共沉淀及定量 PCR 检测, 发现了 E-钙粘着蛋白、plakophilin 2、ZO-3 和连接蛋白 26 基因序列的富集。在 DLD1Tr21/WTZEB2 和 A431/WTZEB2 细胞系中, 野生型而非突变型 ZEB2 能明显下调 E-钙粘着蛋白、P-钙粘着蛋白、闭合蛋白 4、ZO-3、MUC1、plakophilin2、桥粒斑蛋白、连接蛋白 26 和连接蛋白 31 等蛋白质, 这些连接蛋白的下调, 协同地促进了 EMT^[8]。

细胞极性的改变是 EMT 的另一主要特征。三组复合物参与了上皮细胞顶底极性的建立与维持: (1) PAR [Par6/Par3/atypical protein kinase C (aPKC)]; (2) CRB (Crb/Pals/Patj); (3) SCRIB (Scrib/Dlg/Lgl)。PAR 和 CRB 复合物定位于顶端, SCRIB 复合物在基底侧, 它们相互之间有拮抗的关系, 共同决定了细胞的顶底极性^[20]。极性的破坏会促进细胞的转移和侵袭。在筛选 ZEB1 目标调控基因的实验中, 发现未分化的乳腺肿瘤细胞在沉默 ZEB1 后, CRB3、PATJ 和 LGL2 的表达量有成倍的增长, 启动子分析和染色体免疫共沉淀也发现 CRB3 和 PATJ 基因中有 ZEB1 直接结合位点 E 盒(5'-CACCTG-3')^[21]。结肠癌细胞中用类似的方法也发现了 CRB3 和 LGL2 的表达上调以及 LGL2 启动子中存在 ZEB1 的潜在结合位点^[21]。在侵袭性癌细胞中用 siRNA 下调 ZEB1 能够诱导 CRB3 和 LGL2 蛋白的重新表达, 并且沉默 ZEB1 后上调的 CRB3 和 LGL2 部分重新定位到细胞膜上, 在细胞-细胞接触的部分能够检测到紧密连接的特异标志 ZO1, 表明细胞的极性得到了部分的恢复。此外, 在人类肿瘤中, ZEB1 的高表达区域被发现与 LGL2 下调, 极性丧失, EMT 以及细胞的侵袭性相关联, 进一步支持 ZEB1 可以通过影响细胞极性来调节 EMT 和癌细胞的转移^[21,22]。

4.2 ZEB 受到其他 EMT 调节因子和相关信号途径的调控

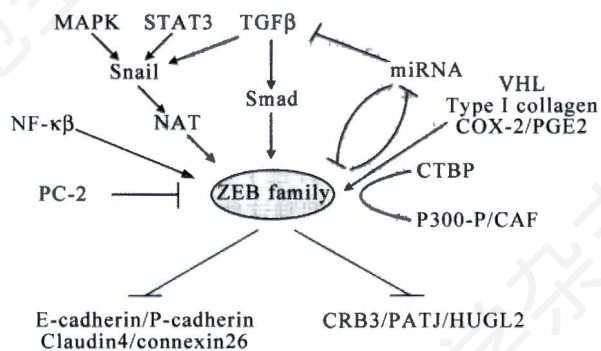


Fig.2 The role of ZEB family in EMT regulating network

ZEB 诱导 EMT 发生的功能同时受到多种因素的调节,最近的研究获得了重要进展。Snail 是一类在转录水平上调节 EMT 的蛋白质家族,Snail 除了能够直接抑制 E-钙粘着蛋白、MUC1 等的转录之外,还能够通过上调 ZEB 家族增强对下游目标蛋白的抑制,促进 EMT 的发生和维持。在 HT-29 M6、MDCK 等细胞系中过表达 Snail 能增加 ZEB1 的 RNA 水平,这种效应至少是部分通过增加 ZEB1 的转录来实现的,当 ZEB1 被激活之后,即使在没有 Snail 的情况下其表达也能在高水平上维持较长的时间(>48 h),ZEB1 可能在 Snail “启动”后维持细胞的 EMT^[23]。ZEB2 同样会被 Snail 的表达所激活,但激活方式与 ZEB1 不同。在上皮细胞中 ZEB2 基因的转录产物含有 3 kb 的 5'-UTR 和开放阅读框,在与剪切体(spliceosome)结合之后,2.5 kb 的 5'-UTR 被切除,剩下的 5'-UTR 包含的序列能阻止核糖体在 mRNA 上滑动,抑制了 ZEB2 的表达。而在转化为间质细胞之后,Snail 能促使 ZEB2 基因的 5'启动子下游转录出一个自然翻译转录物(natural antisense transcript, NAT),NAT 阻止了剪切体切除 5' 2.5 kb 的内含子,由此获得的完整的 5'-UTR 中包含了内部核糖体结合位点(internal ribosome entry site, IRES),该位点为 ZEB2 的翻译提供了条件,进而上调 ZEB2 的量使细胞维持间质细胞的特性^[24]。

TGF β 信号通路是胚胎发育、肿瘤侵袭和纤维化中 EMT 的重要诱导因素^[25-28]。当细胞膜表面受体接收到 TGF β 信号后,受体即通过磷酸化激活下游的 Smad,激活的 Smad 与其他调控因子形成复合体入核调控相应的靶基因表达。多种调节 EMT 的核心分子,如 ILK、MAPK、Snail 等已经被证实不同层面受 TGF β 信号通路的调控^[6]。最近的研究表明,ZEB1 和 ZEB2 均能结合 TGF β 信号通路中的 R-Smads,在 TGF β 信号刺激下,ZEB1 和 ZEB2 与 R-Smad-Smad4 复合体直接结合,调节 SMA、3TP、p21、p15 和 c-jun 等多个与 EMT 直接或间接关联的基因转录^[9]。但是,在这个过程中 ZEB1 和 ZEB2 的功能有所不同:如前文所述,ZEB 家族主要通过 CTBP 协同起到抑制转录的作用,但是,在 TGF β 途径中 ZEB1 还有激活目标基因的功能。这种差异可以从它们序列上的不同找到启示:ZEB1 和 ZEB2 都有 Smad 和 CTBP 结合序列,但是 ZEB1 的 N 端还有独特的 p-300 及 P/CAF 结合区,p-300 和 P/CAF 作为乙酰化酶,结合 ZEB1 之后能够将 CTBP 结合序列的部分丝氨酸乙酰化,从而使 ZEB1-CTBP 复合体解聚,新的 Smad-ZEB1-P/CAF

复合体激活下游靶基因的转录;而由于 ZEB2 不具有类似的结构域,它始终与 CTBP 以复合体的形式抑制 E-钙粘着蛋白等靶基因的转录^[9,10]。ZEB1 具有激活转录的功能暗示了肌球蛋白、波形蛋白等成纤维细胞标志在 EMT 中上调的可能机制^[15]。

I 型胶原蛋白可以诱导 Panc-1 细胞中 E-钙粘着蛋白的下调和细胞的 EMT,在这个过程中,ZEB2 以依赖于 src 激酶的形式被激活,ZEB2 或许介导了 I 型胶原蛋白与 E-钙粘着蛋白之间的信号传递^[29]。NF- κ B 是诱导 EMT 信号传递的核心之一,在激活和维持癌细胞转移中都起到了关键作用,研究表明,在 NF- κ B 被持续激活的 EMT 细胞中,ZEB1 和 ZEB2 都有明显上调,暗示 ZEB 可能受到 NF- κ B 通路的调控^[30]。在肾透明细胞癌中,Hippel-Lindau 肿瘤抑制因子(Hippel-Lindau tumor suppressor, VHL)丧失正常功能,引起 E-钙粘着蛋白的丧失和细胞粘连的下降,这个过程主要是由于缺氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)的异常激活造成,同时 ZEB1 和 ZEB2 的 mRNA 表达随之增加,因此 ZEB 家族或许受到 VHL 和 HIF-1 直接或间接的调控^[31]。生理和病理条件下,环氧酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2)和它的代谢产物前列腺素 E2(PGE2)在调节细胞功能方面都有重要作用,在人类非小细胞肺癌细胞中,COX2/PGE2 都能诱导 E-钙粘着蛋白下调,促进癌细胞的侵袭和转移。ZEB1 是此过程的必需条件,PGE2 增强了 ZEB1 与染色体的结合能力;敲除 ZEB1 能够抑制 PGE2 下调 E-钙粘着蛋白的功能,所以 COX2/PGE2 也是 ZEB 的调控因素之一^[32]。

最近发现一类 microRNA(miRNA)也能够调节 ZEB 家族的表达,从而影响到 EMT。miRNA 是一类 18~24 核苷酸的非编码 RNA 序列,具有转录后调控基因表达的功能。miRNA 通过与目标 mRNA 的 3'-UTR 特异结合,抑制它们的翻译,同时加快它们的降解^[33]。在不同的组织细胞,不同的发育阶段,在不同的外界信号刺激下,miRNA 的表达水平往往有很大差异。在多种细胞进行 EMT 的过程中,都发现有 miR-200 家族成员 miRNA(miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141 和 miR-429)的特异性下调,并且过表达 miR-200 家族的 miRNA 足以抑制这些细胞的 EMT,表明它们很可能与 EMT 相关,进一步研究发现,它们是通过作用于 ZEB1 和 ZEB2 来调控 EMT 的^[34,35]。其中,ZEB2 基因的 3'-UTR 有 2 个 miR-200a/141 和 5 个 miR-200b/200c/429 潜在的结合位点。ZEB1 基因的 3'-UTR 有 5 个 miR-200b/200c/429 和 3 个 miR-200a/200c/

141 潜在的结合位点。这些 miRNA 通过 5' 2~8 nt 的“种子序列(seed sequences)”与互补的目标序列结合,达到在转录后层面调节基因表达的目的。内源的 miRNA 足以抑制 ZEB 的翻译并且可能促进了 ZEB mRNA 的降解,对 ZEB 基因 3'-UTR 的目标序列点突变能有效地解除小 RNA 的抑制作用,RT-PCR 结果也表明,这些 miRNA 能够控制 ZEB mRNA 的量^[35]。抑制这些 miRNA 足以下调 MDCK 细胞和 NMuMG 细胞中 E-钙粘着蛋白表达并诱导 EMT^[34,35]。在多种哺乳动物细胞癌变中,也发现了 miR-200 家族 miRNA 明显下调的现象,并且是和 ZEB 异常表达,E-钙粘着蛋白下调等过程偶联^[34,36]。在人类、斑马鱼的上皮细胞类组织中,miR-200a 和 miR-200b 含量丰富;在鸡胚的内胚层和外胚层它们的表达水平也比较高;在皮肤形态发生中,miR-200 的所有成员都在上皮中高表达^[35]。表明无论是在肿瘤或在胚胎发育中,miR-200 家族 miRNA 可能都对 ZEB 介导的 EMT 起重要的调节作用。

事实上,ZEB、TGF β 和 miRNA 很可能形成了一个双重负调机制:(1) ZEB1 不仅受 miRNA 调节,它也能抑制 miRNA 的转录,miRNA-141 和 miRNA-200c 等编码基因的上游都有 ZEB1 的潜在结合序列 E 盒;在胰腺癌、直肠癌和乳腺癌细胞中敲除 ZEB1 后 miRNA-200 家族成员和 miRNA-141 的表达量都有高达 1.75 倍的上调;染色体免疫共沉淀也提供了它们直接结合的证据。(2) TGF β 基因的 3'-UTR 中发现了保守的 miRNA 结合序列,荧光检测体系也验证了 miRNA 确实能够抑制 TGF β 的内源表达^[37]。

5 小结

EMT 在动物胚胎发育和肿瘤细胞的转移和侵袭过程中都有重要的作用,ZEB 作为 EMT 中的核心因素,以侧翼锌指簇结合 E 盒的方式,抑制以 E-钙粘着蛋白、极性蛋白为主的上皮细胞命运决定子,促进 EMT 的发生。同时 ZEB 又受到 TGF β 、Snail、miRNA 等上游因子在转录和转录后层面的调节,是连接信号转导和细胞粘附、细胞极性的纽带。ZEB 家族的功能研究为胚胎发育机制的阐明和癌症的诊断和治疗提供了全新的线索和方向。

参考文献(References)

- [1] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies, *Curr Opin Cell Biol*, 2003, 15(6): 740-746
- [2] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour

- progression, *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(6): 442-454
- [3] Lee JM, Dedhar S, Kalluri R, et al. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease, *J Cell Biol*, 2006, 172(7): 973-981
- [4] Takeichi M. Cadherins in cancer: implications for invasion and metastasis, *Curr Opin Cell Biol*, 1993, 5(5): 806-811
- [5] Harrington KJ, Syrigos KN. The role of E-cadherin-catenin complex: more than an intercellular glue?, *Ann Surg Oncol*, 2000, 7(10): 783-788
- [6] Huber MA, Kraut N, Beug H. Molecular requirements for epithelial-mesenchymal transition during tumor progression, *Curr Opin Cell Biol*, 2005, 17(5): 548-558
- [7] Remacle JE, Kraft H, Lerchner W, et al. New mode of DNA binding of multi-zinc finger transcription factors: deltaEF1 family members bind with two hands to two target sites, *EMBO J*, 1999, 18(18): 5073-5084
- [8] Vandewalle C, Comijn J, De Craene B, et al. SIP1/ZEB2 induces EMT by repressing genes of different epithelial cell-cell junctions, *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(20): 6566-6578
- [9] Postigo AA. Opposing functions of ZEB proteins in the regulation of the TGF β /BMP signaling pathway, *EMBO J*, 2003, 22(10): 2443-2452
- [10] Postigo AA, Depp JL, Taylor JJ, et al. Regulation of Smad signaling through a differential recruitment of coactivators and corepressors by ZEB proteins, *EMBO J*, 2003, 22(10): 2453-2462
- [11] Eger A, Aigner K, Sonderegger S, et al. DeltaEF1 is a transcriptional repressor of E-cadherin and regulates epithelial plasticity in breast cancer cells, *Oncogene*, 2005, 24(14): 2375-2385
- [12] Comijn J, Bex G, Vermassen P, et al. The two-handed E box binding zinc finger protein SIP1 downregulates E-cadherin and induces invasion, *Mol Cell*, 2001, 7(6): 1267-1278
- [13] Funahashi J, Sekido R, Murai K, et al. Delta-crystallin enhancer binding protein delta EF1 is a zinc finger-homeodomain protein implicated in postgastrulation embryogenesis, *Development*, 1993, 119(2): 433-446
- [14] Van de Putte T, Maruhashi M, Francis A, et al. Mice lacking ZFH1B, the gene that codes for Smad-interacting protein-1, reveal a role for multiple neural crest cell defects in the etiology of Hirschsprung disease-mental retardation syndrome, *Am J Hum Genet*, 2003, 72(2): 465-470
- [15] Liu Y, El-Naggar S, Darling DS, et al. Zeb1 links epithelial-mesenchymal transition and cellular senescence, *Development*, 2008, 135(3): 579-588
- [16] Long J, Zuo D, Park M. Pc2-mediated sumoylation of Smad-interacting protein 1 attenuates transcriptional repression of E-cadherin, *J Biol Chem*, 2005, 280(42): 35477-35489
- [17] van Grunsven LA, Michiels C, Van de Putte T, et al. Interaction between Smad-interacting protein-1 and the corepressor C-terminal binding protein is dispensable for transcriptional repression of E-cadherin, *J Biol Chem*, 2003, 278(28): 26135-26145
- [18] Postigo AA, Dean DC. ZEB represses transcription through interaction with the corepressor CtBP, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(12): 6683-6688
- [19] Pena C, Garcia JM, Garcia V, et al. The expression levels of the transcriptional regulators p300 and CtBP modulate the corre-

- lations between SNAIL, ZEB1, E-cadherin and vitamin D receptor in human colon carcinomas, *Int J Cancer*, 2006, 119(9): 2098-2104
- [20] Lee M, Vasioukhin V. Cell polarity and cancer — cell and tissue polarity as a non-canonical tumor suppressor, *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt8): 1141-1150
- [21] Aigner K, Dampier B, Descovich L, *et al.* The transcription factor ZEB1 (deltaEF1) promotes tumour cell dedifferentiation by repressing master regulators of epithelial polarity, *Oncogene*, 2007, 26(49): 6979-6988
- [22] Spaderna S, Schmalhofer O, Wahlbuhl M, *et al.* The transcriptional repressor ZEB1 promotes metastasis and loss of cell polarity in cancer, *Cancer Res*, 2008, 68(2): 537-544
- [23] Guaita S, Puig I, Franci C, *et al.* Snail induction of epithelial to mesenchymal transition in tumor cells is accompanied by MUC1 repression and ZEB1 expression, *J Biol Chem*, 2002, 277(42): 39209-39216
- [24] Beltran M, Puig I, Pena C, *et al.* A natural antisense transcript regulates *Zeb2/Sip1* gene expression during *Snail1*-induced epithelial-mesenchymal transition, *Genes Dev*, 2008, 22(6): 756-769
- [25] Dorsky RI, Moon RT, Raible DW. Environmental signals and cell fate specification in premigratory neural crest, *Bioessays*, 2000, 22(8): 708-716
- [26] Potts JD, Runyan RB. Epithelial-mesenchymal cell transformation in the embryonic heart can be mediated, in part, by transforming growth factor beta, *Dev Biol*, 1989, 134(2): 392-401
- [27] Potts JD, Dagle JM, Walder JA, *et al.* Epithelial-mesenchymal transformation of embryonic cardiac endothelial cells is inhibited by a modified antisense oligodeoxynucleotide to transforming growth factor beta 3, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(4): 1516-1520
- [28] Nawshad A, Lagamba D, Polad A, *et al.* Transforming growth factor-beta signaling during epithelial-mesenchymal transformation: implications for embryogenesis and tumor metastasis, *Cells Tissues Organs*, 2005, 179(1-2): 11-23
- [29] Imamichi Y, Konig A, Gress T, *et al.* Collagen type I-induced Smad-interacting protein 1 expression downregulates E-cadherin in pancreatic cancer, *Oncogene*, 2007, 26(16): 2381-2385
- [30] Chua HL, Bhat-Nakshatri P, Clare SE, *et al.* NF-kappaB represses E-cadherin expression and enhances epithelial to mesenchymal transition of mammary epithelial cells: potential involvement of ZEB-1 and ZEB-2, *Oncogene*, 2007, 26(5): 711-724
- [31] Krishnamachary B, Zagzag D, Nagasawa H, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1-dependent repression of E-cadherin in von Hippel-Lindau tumor suppressor-null renal cell carcinoma mediated by TCF3, ZFH1A, and ZFH1B, *Cancer Res*, 2006, 66(5): 2725-2731
- [32] Dohadwala M, Yang SC, Luo J, *et al.* Cyclooxygenase-2-dependent regulation of E-cadherin: prostaglandin E₂ induces transcriptional repressors ZEB1 and snail in non-small cell lung cancer, *Cancer Res*, 2006, 66(10): 5338-5345
- [33] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function, *Cell*, 2004, 116(2): 281-297
- [34] Korpai M, Lee ES, Hu G, *et al.* The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2, *J Biol Chem*, 2008, 283(22): 14910-14914
- [35] Gregory PA, Bert AG, Paterson EL, *et al.* The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1, *Nat Cell Biol*, 2008, 10(5): 593-601
- [36] Park SM, Gaur AB, Lengyel E, *et al.* The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2, *Genes Dev*, 2008, 22(7): 894-907
- [37] Burk U, Schubert J, Wellner U, *et al.* A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells, *EMBO Rep*, 2008, 9(6): 582-589

The Mechanism of Regulation of EMT by ZEB Family

Ling Shen, Tian-Chi Xin, Ming-Fa Li*

(School of Life Science and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a process in which epithelial cells lose polarity and cell-cell contacts and turn in to a mesenchymal state characterized by increased cell mobility. EMT plays an important role in both embryogenesis and tumor invasion and migration. Recent researches have revealed that the zinc finger E-box-binding protein (ZEB) family can induce EMT. ZEB1/ZEB2 directly or indirectly represses the transcription of epithelial cell-cell junction and polarity genes by binding to E-box sequence, thus promoting the transition to mesenchymal cells. On the other hand, ZEB family members are not only regulated by signals such as TGF β , Snail, NF- κ B, hypoxia, but also targeted by miR-200 family in a reciprocal way.

Key words epithelial-mesenchymal transition; ZEB; E-cadherin

Received: May 11, 2009 Accepted: November 18, 2009

This work was supported by the Shanghai Pujiang Program (No.05PJ14075)

*Corresponding author. Tel: 86-21-34204918, Fax: 86-21-34205709, E-mail: mfli@sjtu.edu.cn