

肿瘤微环境中上皮-间质转化与肿瘤干细胞的调控

朱小辉 王嘉健 唐磊 杨帆 井申荣 张继虹*

(昆明理工大学医学院, 昆明 650500)

摘要 肿瘤微环境是一个复杂的组织样结构, 具有丰富的表型和功能异质性。不同浓度的趋化因子、细胞因子与组成肿瘤微环境的细胞间相互作用, 可激活上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关的信号通路及控制肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)的生成。EMT的异常激活会促进肿瘤细胞的可塑性, 赋予上皮细胞间充质特性, 并与癌细胞获得侵袭性的特征密切相关。CSCs是一类具有高致瘤潜能的细胞群, 其能很容易地适应周围环境的变化, 与肿瘤内其他细胞相比具有较强的抗药性。该文对肿瘤微环境中EMT与CSC的作用机制及相关信号通路的研究进展进行综述。

关键词 肿瘤微环境; 上皮-间质转化; 肿瘤干细胞; 信号通路

The Regulation of Epithelial-Mesenchymal Transition and Cancer Stem Cells in Tumor Microenvironment

ZHU Xiaohui, WANG Jiajian, TANG Lei, YANG Fan, JING Shenrong, ZHANG Jihong*

(Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract Tumor microenvironment is a complex tissue-like structure with extensive phenotypic and functional heterogeneity. Different concentrations of chemokines and cytokines interact with the cells that make up the tumor microenvironment, which can activate signaling pathways related to EMT (epithelial-mesenchymal transition) and control the generation of CSCs (cancer stem cells). Abnormal activation of EMT can promote the plasticity of tumor cells and endow epithelial cells with mesenchymal characteristics, which are closely related to the aggressive characteristics of cancer cells. CSCs are a class of tumorigenic potential cells that can easily adapt to the changes in the microenvironment. Moreover, CSCs possess stronger drug resistance than other cells in the tumor. This article reviews the action mechanisms of EMT and CSC in tumor microenvironment and the research progresses of related signal pathways.

Keywords tumor microenvironment; epithelial-mesenchymal transition; cancer stem cells; signaling pathway

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)是肿瘤细胞赖以生存的复杂环境, 除了细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和各种细胞因子外, 它

还由许多基质细胞组成, 包括癌相关成纤维细胞、内皮细胞、间质干细胞、免疫和炎性细胞等, 存在显著低氧、低pH和高压等生理特点。在肿瘤的发

收稿日期: 2020-10-04 接受日期: 2020-11-10

国家自然科学基金(批准号: 81960670、81960555)、云南省科技厅重点项目(批准号: 202001AS070012、2019FB108)和云南省教育厅科学研究基金(批准号: 2018JS017)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65936565, E-mail: zhjihong2000@kust.edu.cn

Received: October 4, 2020 Accepted: November 10, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81960670, 81960555), the Science and Technology Plan Project of Science & Technology Department of Yunnan Province (Grant No.202001AS070012, 2019FB108), and the Science Research Foundation of Yunnan Provincial Department of Education (Grant No.2018JS017)

*Corresponding author. Tel: +86-871-65936565, E-mail: zhjihong2000@kust.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5428>

生和发展中, TME参与致癌作用的各个方面, 包括肿瘤生长、转移、耐药和免疫逃逸等^[1]。TME不仅从基因或表观层面决定肿瘤的发展, 还可以对肿瘤细胞赖以生存的周围环境进行调控, 进而影响肿瘤的进展。TME包含了基质细胞、免疫细胞、细胞因子和生长因子以及细胞外基质等多种因素, 这些环境因素通过改变细胞的自我更新途径, 如: Wnt/ β -catenin、Notch、Hh(Hedgehog)等途径, 或通过阻断关键转录调控因子的表达, 对肿瘤的上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、间质-上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET)、肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)的产生以及最后的远端“定植”都有着重要的作用, 以促进肿瘤的增殖、侵袭、黏附、血管生成以及抗放射化疗能力等, 从而影响肿瘤组织的恶性进展^[2]。此外, 肿瘤细胞还能招募许多天然免疫系统的细胞成分, 如巨噬细胞、髓源性抑制细胞、调节性T细胞等, 这些细胞通过释放可溶性介质抑制T细胞活化和增殖并形成肿瘤细胞自身局部环境, 在肿瘤细胞的增殖以及逃避免疫监视方面具有重要作用^[3]。

EMT的形成及其反向MET是进化上保守的细胞生物学过程, 涉及胚胎发育、组织修复和伤口愈合等^[4]。EMT促进了原发性肿瘤细胞向继发性肿瘤部位的扩散和迁移, 随后这些部位的肿瘤细胞可经历MET而形成继发性肿瘤, 从而导致肿瘤转移^[5]。EMT程序由多种微环境信号协同诱导, 其可导致上皮细胞标志物E-钙黏蛋白的表达减少和间充质细胞蛋白的表达增加, 使上皮细胞失去黏附连接和上皮极性, 获得具有侵袭性的间充质表型^[6]。此外, 除了形态学的改变, 部分的癌细胞在EMT过程中也会诱导肿瘤的起始状态, 被称为CSC状态, 这一过程产生的CSCs则是一种癌细胞亚群, 具有通过对称和不对称细胞分裂自主再生、增殖和分化为多种癌细胞系的能力, 这些特性再加上肿瘤微环境的保护, 使其在调控肿瘤的发生发展以及耐药中发挥着重要作用^[7-8]。EMT和CSCs的形成是推动肿瘤发展、抗药性和转移的两个重要过程, 两者为研究肿瘤细胞内异质性和肿瘤药物的抗性机制提供了机会。本文旨在阐述EMT和CSCs在肿瘤微环境中的作用和机制, 以及调控EMT和CSCs相关信号通路的研究进展。

1 上皮-间质转化

EMT涵盖了从上皮到间质表型细胞形态的动态变化, 如细胞极性的丧失、细胞与细胞连接的破坏、基底膜的降解以及细胞外基质的重组等, 从而导致细胞迁移和侵袭变强, 同时细胞凋亡受到抑制, 促使肿瘤的转移和复发。研究表明, EMT是由TME中外源性转录因子(如上皮生长因子、转化生长因子、成纤维细胞生长因子)以及关键信号通路(Hh、Wnt/ β -catenin或NF- κ B信号通路)或细胞因子[如IL-6(interleukin 6)]诱导的异常转分化程序, 并且细胞外信号的刺激促进了EMT转录因子[如SNAIL、TWIST或FOXC2(forkhead box C2)]的过度表达, 这些转录因子通过抑制上皮表型、增强间充质特性以及诱导降解基底膜和细胞外基质的能力来引发EMT程序^[9]。在小鼠和人类模型中, 肿瘤细胞中SNAIL水平的升高可导致转移潜能和肿瘤起始能力的增强^[10]。EMT与多种肿瘤功能有关, 包括肿瘤发生、恶性进展、肿瘤干细胞产生、肿瘤细胞迁移和转移以及对治疗的抵抗等。

1.1 EMT与肿瘤转移

在分子水平上, EMT导致上皮细胞表面标记物E-钙黏蛋白表达降低或膜定位丧失, 以及间充质标记物如波形蛋白、N-钙黏蛋白、 α -平滑肌动蛋白和纤连蛋白表达增加^[11], 从而导致细胞迁移和侵袭的功能变化。一项对结肠腺癌的研究发现, 侵袭前沿的细胞是间充质性的, 而远端的肝转移是上皮性的^[12], 这表明间充质属性在原发性肿瘤的早期逃逸中起重要作用, 而MET获得的上皮特性是建立转移灶的必要条件。MET使细胞能够恢复其内聚性生长的能力, 使它们能够在继发性肿瘤部位定植, 因此, MET对于肿瘤细胞转移定植的后期是必不可少的^[13-14]。此外, 最近的研究表明, EMT以渐进的方式发生, 其特征是几种状态的细胞表达不同水平的上皮和间充质标记, 表现出介于上皮细胞和间充质细胞之间的中间形态和表观遗传特征^[15]。然而在混合上皮/间充质(EMT/MET)表型中的细胞倾向于显示上皮细胞和间充质细胞的特性^[16], 且这些杂交EMT/MET表型与癌细胞的集体细胞迁移有关。在乳腺癌患者中, EMT/MET杂交细胞在循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)中高度富集^[17]。与EMT后的单个细胞相比, CTCs具有高转移率^[18]。关于乳腺癌、鳞状细胞癌、前列腺癌、肺癌、卵

巢癌和胰腺癌的研究也广泛报道了与全上皮或全间充质细胞相比, 混合EMT/MET细胞的干细胞性和耐药性特征增强^[19]; 同时, 这些混合EMT/MET细胞能够克服癌细胞在转移级联过程中面临的各种瓶颈。最近的一项研究证实了这一观点, 该研究确定了TWIST1和氧化应激敏感分子AMP蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)之间的相互作用^[20]。AMPK可以通过在基质附着和基质分离状态之间切换适应性反应来调节癌细胞存活反应。当肿瘤细胞与基质分离时, AMPK可反过来上调TWIST1的表达, 诱导部分EMT。另一项研究表明, 基底细胞样和腔内乳腺癌细胞系在紫杉烷诱导下, 向混合EMT/MET(CD44^{hi}/CD24^{hi})表型的适应性转变, 可在体内形成侵袭性肿瘤^[21]。因此, 混合EMT/MET细胞在转移侵袭级联过程中可能更适应于环境的变化。

1.2 EMT与免疫抑制

EMT被肿瘤微环境基质细胞成分激活时, 产生的准间充质肿瘤细胞不仅可以向原发性肿瘤招募免疫抑制细胞, 还可以保护肿瘤内的上皮细胞免受随后的免疫攻击。肿瘤微环境包括一大群分泌各种细胞因子和趋化因子的基质细胞, EMT可介导其细胞因子和趋化因子的分泌, 这些细胞因子和趋化因子以旁分泌的方式调节聚集在肿瘤微环境中的免疫细胞的活性, 以逃逸免疫细胞的攻击。已有研究表明, EMT转录调控因子SNAIL参与肿瘤的免疫逃逸和抑制。QIAN等^[22]发现, PKC- ι /P-Sp1/SNAIL信号传导途径促进肿瘤细胞发生EMT, 其可导致免疫抑制性CD4⁺Foxp3⁺Treg细胞比例增加, 诱导其免疫抑制。KUDO等^[23]的研究也表明, SNAIL通过对Treg细胞和树突状细胞的免疫抑制作用, 诱导黑色素瘤的免疫治疗抗性。他们随后的研究发现, SNAIL可上调趋化因子CCL2(chemokine ligands 2)的表达, 以诱导胰腺癌微环境中Treg细胞、TAMs(tumor-associated macrophages)和MDSCs(myeloid-derived suppressor cells)的浸润^[24], 并且该趋化因子能够以自分泌的方式触发表达SNAIL的黑色素瘤细胞释放次生诱导脂蛋白2(lipocalin 2, LCN2), 随后CCL2和LCN2协同抑制其免疫调节性树突状细胞的活性^[24], 并抑制CD8⁺T细胞的诱导, 以建立促进转移的免疫抑制微环境。此外, EMT通过改变细胞表面免疫调节标记诱导免疫逃逸, 如EMT可导致乳腺癌中主要

的组织相容性复合体-I类(histocompatibility complex class-I, MHC-I)或人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)在细胞表面的表达降低, 使肿瘤细胞能够逃避T细胞的免疫识别, 以及诱导肿瘤细胞高表达程序性死亡配体1(programmed death ligand 1, PD-L1), PD-L1与其在T细胞表面表达的同源受体PD-1(programmed death-1)结合后, 触发T细胞凋亡^[25-26], 使EMT激活的细胞对免疫细胞介导的裂解具有抗性。

1.3 EMT与CSCs

在多种人类肿瘤类型中发现, EMT程序的激活与进入CSCs状态密切相关, 又因为肿瘤细胞具有表型可塑性, EMT和MET的可逆性表明其本质上的表型可塑性促进了CSCs与非CSCs间的灵活转变。EMT程序不仅引发肿瘤的恶性进展, 还赋予其他上皮肿瘤干细胞许多特性, 包括肿瘤干细胞特异性细胞表面标记物(CD24⁺/CD44⁺)的表达、悬浮培养肿瘤球形成能力的增加、小鼠接种后成瘤能力的增加。有研究证实, CSCs的可塑性使其具有上皮和间质两种表型^[27]。FEDERICO等^[28]也证明了具有不同EMT表型的CSC亚群: 一种为间充质干细胞, 位于肿瘤侵袭边缘; 而另一种为上皮干细胞, 位于肿瘤内部。此外, EMT和肿瘤干细胞生成间的联系还涉及EMT相关转录因子和表观遗传调控因子的调控网络控制。在乳腺癌中, 非编码RNA(miR-200)通过靶向自身的阻遏物ZEB1(zinc finger e-box binding homeobox 1)来促进上皮分化, 并阻断干细胞相关因子和表观遗传调控因子BMI1(B cell-specific moloney murine leukaemia virus integration site 1)的翻译, 而ZEB1也可以通过直接抑制自身阻遏物miR-200的表达, 诱导EMT和干细胞样表型^[29]。WU等^[30]发现, EMT通过抑制miR-200c促进PGC1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha)介导线粒体融合蛋白MFN1(mitofusin1)的激活, MFN1与细胞极性蛋白复合物PKC ζ /NUMB相互作用, 以指导乳腺干细胞的不对称分裂, 允许维持干细胞的自我更新。这些研究结果表明, 除了传统地将EMT程序描述为转移性播散的驱动因素外, 激活EMT程序可以直接增强肿瘤的起始, 从而产生转移性CSCs。此外, 肿瘤组织中EMT和干细胞间的联系使癌细胞能够在间充质干细胞状态与快速增殖和分化的上皮状态之间进行转换, 从而创造了肿瘤内异性的一个重要

维度,这对于肿瘤的复发、转移和耐药具有重要作用。

2 CSCs

许多假设将CSCs的起源归因于干细胞、祖细胞或分化细胞中的突变和表观遗传的变化^[31]。CSCs是一种类似于正常干细胞的癌细胞亚群,具有通过对称和不对称细胞分裂自动再生、增殖和分化为多种癌细胞谱系的能力,可导致肿瘤异质性和治疗抵抗以及特异性表面标记。有证据表明,CSCs受多种耐药机制保护,从而导致肿瘤转移、治疗耐药和复发,再加上肿瘤特异性微环境包括基质细胞、免疫细胞、细胞因子、生长因子以及低氧区域和细胞外基质,这些环境因素分泌各种旁分泌因子或改变自我更新途径,如Wnt/ β -catenin、Notch和Hh信号通路,或者阻断维持胚胎干细胞自我更新的主要转录调控因子,如NANOG、OCT-4(octamer-binding protein-4)和SOX-2(sex-determining region Y-box 2),共同维持CSCs的自我更新^[32]。迄今为止,有研究已经能够识别出CSCs的一些基本特征,包括:(1)少量CSCs能够引发新的肿瘤;(2)自我更新和分化特性;(3)具有特异性和可区分的表面标记;(4)移植能力;(5)对常规化疗和放疗的抵抗力^[33]。

2.1 CSCs免疫调节特性

在免疫编辑的复杂过程中,TME不同细胞亚群释放的细胞因子有助于建立免疫抑制环境,然而干细胞可以通过释放调节肿瘤浸润细胞活性的细胞因子来抑制这一特性。例如,黑色素瘤和肺CSCs释放IL-10^[34],而IL-10是一种促炎细胞因子,对T细胞产生负调节作用,并刺激Treg细胞的扩增^[35]。在肺CSCs过度表达和释放的促炎细胞因子IL-13,可削弱CD8⁺T细胞的细胞毒性^[36]。此外,生长分化因子-15(growth differentiation factor-15, GDF-15)是细胞因子TGF- β (transforming growth factor beta)超家族的成员,在结直肠癌和神经胶质瘤标本中检测到它有助于促进EMT,肿瘤转移、增殖和免疫逃逸。它能够通过自分泌/旁分泌方式诱导其自身表达来维持乳腺癌组织中的CSCs^[37]。CSCs还可调节主要免疫细胞如T细胞、B细胞等的功能^[38]。CSCs主要介导MHC-I、MHC-II、NKG2DL(natural killer group 2 member D ligand)的缺陷表达和产生形成免疫抑制性TME的一些特殊的细胞因子、生长因子、趋

化因子和酶,进而调节免疫系统的反应以免受免疫细胞的攻击^[39-40]。此外,研究表明,CSCs产生免疫系统抑制因子并与CD47、PD-L1、CTLA4(cytotoxic t-lymphocyte antigen 4)、TIM3(T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3)和LAG3(lymphocyte activation gene 3)等免疫检查点分子相互作用,能够与TME成分进行通讯,保护癌细胞免受免疫清除,最终导致治疗失败和肿瘤复发^[41]。PD-L1是一种免疫检查点蛋白,已知可触发原性免疫表型,还发现其在黑色素瘤的质膜以及卵巢、乳腺、结肠和肺CSCs中上调^[42]。特别是与T细胞质膜上的受体(PD-1)结合的PD-L1,能够抑制免疫刺激细胞因子[即IFN- γ (interferon- γ)和IL-2]的产生,抑制T细胞介导的免疫反应,并促进免疫抑制调节性T细胞的扩增^[43]。因此,CSCs的免疫调节特性可以促使它们逃避免疫监视,从而免受抗肿瘤免疫细胞的致命攻击^[44]。

2.2 CSCs与化疗抵抗

目前,癌症治疗的一个主要挑战是化疗后的耐药和复发,而CSCs在这一事件中起着关键作用。CSCs对传统化疗的耐药性被认为是转移性疾病治疗耐药的主要机制之一。放射治疗和大多数细胞毒性疗法的主要靶点是迅速分裂(激活)凋亡敏感分化细胞(干细胞和癌细胞),而不是CSCs,从而使抗肿瘤的CSCs富集而引起肿瘤耐药和复发。有研究证实,不同组织来源的CSCs能够抵抗多种药物的作用,如阿霉素、替莫唑胺、顺铂、紫杉醇、足叶乙甙和甲氨蝶呤^[45]。近几年的研究发现,CSCs化疗耐药的一个显著特征归因于ATP结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白的高水平表达^[45]。此外,CSCs所表现出的增强DNA损伤修复的作用似乎可以保护它们免受化疗和放疗介导的细胞凋亡的影响,并为它们的生存能力增加了另一层保护^[46]。一项研究证明,胶质母细胞瘤干细胞能够有效激活ATM-丝氨酸/苏氨酸激酶和DNA损伤检查点蛋白激酶1(checkpoint kinase 1, Chk1),以应对电离辐射^[47]。另一项研究通过激活Chk1,提高了非小细胞肺癌干细胞抵抗化疗药物治疗的能力^[46]。此外,CSCs已经被证明能够抵抗由内源性或线粒体依赖性死亡途径和外源性细胞死亡受体途径介导的凋亡。例如,人脑胶质瘤和白血病的CSCs表达较低水平的Fas和Fas配体(Fas-ligand, Fas-L)^[48],导致对外源性受体介导的细胞死

亡的抵抗, 以及参与线粒体依赖性死亡途径的促生存蛋白BCL-2(B-cell lymphoma-2)通过与促凋亡蛋白BAX(BCL2-associated-X-protein)和BAK(BCL-2 homologous antagonist killer)相互作用, 并损害BAX和BAK释放凋亡蛋白(如细胞色素c)的能力来介导CSCs自身的促生存作用, 且BCL-2在白血病、胶质瘤和胶质母细胞瘤干细胞中被发现过表达^[49]。

3 EMT与CSCs的调控

肿瘤微环境中大量的细胞因子和趋化因子(如肿瘤坏死因子- α 、TGF- β 和表皮生长因子等)可通过旁分泌形式作用在肿瘤细胞特异性受体上, 使肿瘤细胞分泌蛋白谱发生改变, 建立了自分泌信号路径, 且该路径有助于非肿瘤细胞和肿瘤细胞干性的出现, 包括Hh、Notch、JAK/STAT3、Wnt/ β -catenin、TGF- β 等多种信号通路。

3.1 Wnt/ β -catenin信号通路

Wnt信号转导是胚胎发生和修复过程中调节组织形态发生的重要机制之一。异常的Wnt信号与几种癌症有关, 最突出的是结直肠癌、乳腺癌、肺癌、口腔癌、宫颈癌和造血系统恶性肿瘤, 这与Wnt信号调控恶性肿瘤的EMT和CSCs的发生紧密相关。Wnt/ β -catenin信号通路高度保守, 它调节转录辅因子 β -catenin的稳定性并依赖于 β -catenin基因的表达(图1A)^[50]。Wnt信号通路异常激活时, β -catenin积累并转移到细胞核内调控靶基因的表达, 导致TWIST、SLUG和N-钙黏蛋白的表达上调, 并抑制E-钙黏蛋白的表达, 促进EMT的发生^[51]。研究表明, Wnt/ β -catenin信号传导经EMT产生, 在维持CSCs的生成中也有着重要的作用, 其信号通路的异常激活可促进正常干细胞的恶性转化, 大多数 β -catenin靶基因可促进CSCs的形成^[52]。JUNG等^[53]证明了Wnt/ β -catenin信号通路通过使人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)过表达, 从而增强CSC活性的调节而促进乳腺癌的发生和肿瘤的生长侵袭。CXCL12(C-X-C motif chemokine ligand 12)属于CXC亚家族, 是进化最保守的趋化因子之一, 它能够诱导乳腺癌细胞上皮向间质转化, SHAN等^[54]通过使CXCL12过度表达而激活Wnt/ β -catenin途径, 触发了乳腺癌细胞的EMT并诱导了CSC表型的形成, 最终促进了乳腺癌细胞的转移。同时, HUANG等^[55]发现, Wnt介导内皮细胞向间充

质干细胞样转化并诱导胶质母细胞瘤的化疗耐药。除此之外, miRNA也能通过靶向Wnt/ β -catenin信号通路, 刺激 β -catenin的活性进而调节干细胞特性。miR-19^[56]、miR-501-5p^[57]和miR-744^[58]的上调刺激 β -catenin的活化, 从而使 β -catenin被转移到细胞核并刺激基因表达。

3.2 TGF- β 信号通路

在肿瘤微环境的众多信号中, TGF- β 信号在肿瘤中普遍上调, 通常在调节细胞生长和分化、炎症反应、免疫逃避和肿瘤发生中具有重要作用, 该途径表现出组织和细胞环境依赖性效应, 并且还可以从肿瘤发生早期的抗肿瘤功能转变为晚期的原生功能。TGF- β 信号常常启动和驱动肿瘤细胞的EMT。已有研究证明, 胰腺导管腺癌中KRAS的致癌突变通过激活TGF- β 信号传导刺激EMT^[59]; 致癌的KRAS通过TGF- β 信号在诱导EMT的同时抑制KLF5(kruppel-like factor 5)的表达来诱导EMT转录因子(SNAIL)的表达^[60], 这类细胞中KLF5的缺失允许SOX-4(sex-determining region Y-box 4)通过诱导程序性细胞死亡来启动表型检查点, 因此在胰腺癌形成过程中, 具有致癌性KRAS激活的原生胰腺导管腺癌细胞需要在遗传上改变TGF- β 途径, 以使信号失活或逃避其凋亡诱导功能, 同时保留其导致免疫逃避、侵袭和转移的原生功能。TGF- β 还依赖于RAS和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)途径的输入, 在胰腺导管腺癌中诱导EMT。SU等^[61]发现, RAS反应元件结合蛋白1(RAS-responsive element binding protein 1, RREB1)是SMAD2/3的一种新的辅因子, 负责SMAD2/3向SNAIL基因座募集(图1B)。RREB1通过与SMADs合作调节不同的转录程序, 在原肠胚形成过程中诱导发育性EMT, 在肿瘤发生过程中诱导成纤维性EMT。TGF- β 也能间接地诱导肿瘤细胞侵袭和CSCs生成。YOKO等^[62]研究表明, TGF- β 与其他信号通路协同作用, 通过驱动由SMAD3/4介导的表征EMT过程的基因重编程, 激活EMT主转录因子的表达, 如SNAIL、ZEB1和ZEB2, 抑制E-钙黏蛋白的表达, 从而促进TGF- β 诱导的EMT和上皮干细胞的生成。近期的研究发现, TGF- β 也能够通过激活mTOR信号通路, 稳定间充质表型和促进CSCs的生成^[63]。

3.3 JAK/STAT3信号通路

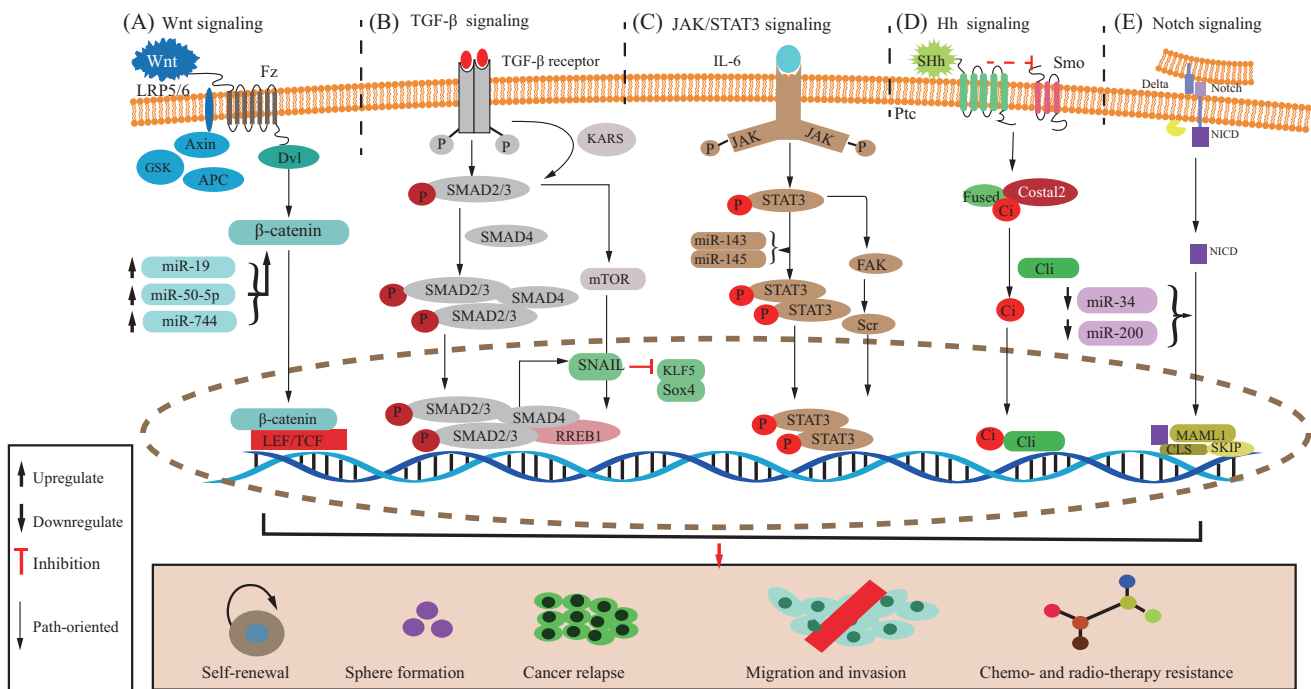
JAK/STAT3信号通路在人类肿瘤的多阶段发

展过程中发挥着重要的生物学功能,包括增殖、炎症、生存、侵袭和转移。激活这一途径可通过促进EMT而提高肿瘤的发生和转移能力,还能促进CSCs的生成,提高肿瘤的化疗抵抗力^[64]。其中,IL-6在介导JAK/STAT3信号通路对肿瘤细胞增殖、存活、侵袭和转移以及对抗肿瘤免疫的抑制作用中起许多重要作用^[65],当细胞表面受体与配体IL-6结合后,通过JAK和生长因子受体酪氨酸激酶诱导STAT3蛋白的酪氨酸磷酸化,然后STATs形成同/异二聚体并入核,以酪氨酸磷酸化依赖的方式与相应的靶基因启动子结合,从而激活相应的基因转录和表达(图1C)。激素、生长因子和趋化因子与JAK/STAT3活化有关,如胃泌素介导的JAK/STAT3和PI3K/AKT通路激活抑制细胞黏附和细胞运动^[66]。此外,胃泌素及其受体GRPR通过增加SNAIL和E-钙黏蛋白的表达而促进EMT的发生,YU等^[67]研究发现,抑瘤素M(oncostatin M, OSM)是一个多功能细胞因子,对JAK/STAT的激活至关重要,它与OSMR(oncostatin M receptor)相互作用,介导JAK2/STAT3/FAK/Src的激活,促进EMT和CSCs的产生。此外,近几年的研究已经在非编码RNA(miRNA)和JAK/STAT3信号之间建立了联系。

JAK/STAT3信号通路通过诱导miRNAs(如miR-143和miR-145)调控靶基因,这些miRNAs通过使TGF- β 的表达上调而促进EMT-TFs(transcription factors)、SNAIL和SLUG的表达,以及通过下调上皮细胞标记物和转录因子[如CREB(cAMP response element-binding protein)、c-FOS和EGR1(early growth response 1)]来诱导EMT^[68]。

3.4 Hh信号通路

Hh信号通路在早期胚胎发育和细胞命运决定的许多重要调控过程中发挥关键作用,包括增殖、凋亡以及组织稳态等。然而,肿瘤中Hh途径的异常激活可以增加肿瘤的增殖分化、血管生成以及侵袭转移。此外,Hh信号通路可对*NANOG*和*OCT-4*等干细胞相关基因进行颠覆性的调控,在维持CSCs表型方面发挥着重要作用。Hh信号传递受靶细胞膜上两种受体Ptc(patchd)和Smo(smoothened)的控制^[69]。Ptc由抑癌基因编码的12个跨膜区的单一肽链构成,能与配体结合,对Hh信号起负调控作用;Smo由原癌基因编码的7个跨膜区的单一肽链构成。正常情况下,Ptc蛋白抑制跨膜蛋白Smo的活性,当受体Ptc与Hh配体结合以后,Ptc对Smo的抑制作用被解除,



A: Wnt信号通路; B: TGF- β 信号通路; C: JAK/STAT3信号通路; D: Hh信号通路; E: Notch信号通路。

A: Wnt signaling; B: TGF- β signaling; C: JAK/STAT3 signaling; D: Hh signaling; E: Notch signaling.

图1 肿瘤微环境中EMT与CSC的信号调控通路

Fig.1 Signal regulation pathways of EMT and CSC in tumor microenvironment

使得Smo在细胞内介导Hh信号通路, 该信号通过促进游离Ci(cubitus interruptus)与转录因子Gli(global lung function initiative)形成转录复合体, 然后进入到细胞核内而激活Hh通路相关靶基因的转录(图1D)。YANG等^[70]发现, Gli的高表达可通过激活PI3K/AKT/NF- κ B信号通路减少E-钙黏蛋白和增加SNAIL和波形蛋白的表达促进EMT, 进而促进肿瘤的增殖和转移。Gli信号能够直接诱导CSCs转录因子NANOG、OCT-4、SOX-2和CD133的表达, 在多发性癌症中维持干细胞状态^[71]。此外, MA等^[72]通过 α -Mangostin建立了抑制胰腺肿瘤EMT的模型, 进而发现EMT能够抑制胰腺CSCs的侵袭和转移能力。

3.5 Notch信号通路

Notch信号传导是一种进化上保守的细胞信号通路, 它影响细胞正常形态发生的多个过程, 包括多能祖细胞的分化、细胞凋亡、细胞增殖及细胞边界的形成。Notch通路分子在肿瘤侵袭边缘高度表达, 活性Notch信号传导因子NICD(notch intracellular domain)通过激活EMT的EMT-TFs, 如SNAIL和ZEB, 进而抑制E-钙黏蛋白的表达并诱导波形蛋白和纤维连接蛋白的表达, 激活EMT。最近的研究证明, Notch信号通路也能介导EMT诱导CSCs的自我更新^[73]。当跨膜配体(Delta或Jagged)与其邻近细胞的跨膜受体Notch结合时, Notch信号通路被激活, 随后触发一系列蛋白水解酶反应导致NICD(Notch细胞内结构域)的释放, 该活性片段易位至细胞核调节多个Notch通路相关靶基因的表达, 其中包括激活配体Notch、Jagged和抑制Delta的表达(图1E)^[69]。LI等^[74]证明, EMT可通过激活Notch信号通路来促进CSC的特性。此外, Notch配体JAG1(Jagged1)在多种肿瘤中都有高表达, 它通过刺激Notch信号在维持肿瘤干细胞数量, 在促进细胞存活、细胞增殖和转移以及抑制细胞凋亡方面发挥重要作用^[75]; 并且发现混合上皮/间充质(EMT/MET)表型具有CSCs的典型特征, 这与Notch-Jagged信号能够稳定维持肿瘤细胞混合EMT/MET细胞状态和介导CSCs特性的获得相关^[28]。另外, 非编码RNA也能介导Notch信号通路分子的表达, 进而激活EMT和CSCs的自我更新, 如miR-34^[76]和miR-200^[77]。

4 EMT与CSCs靶向治疗

EMT和CSC的形成与肿瘤细胞的侵袭和转移密

切相关, 因此, EMT和CSCs已经成为癌症治疗的主要靶点。目前, EMT和CSCs相关的治疗途径主要是靶向抑制其关键信号通路和激活机体的抗肿瘤免疫反应。化疗药物联合抑制TGF- β 、Notch以及Hh等信号通路已成为靶向治疗的目标热点之一。RO4929097是一种口服生物可利用的小分子GSI(gene structure informed), 能够对Notch信号产生有效的抑制作用。XU等^[78]通过使用RO4929097联合替莫唑胺和放疗, 导致肿瘤细胞和血管的活性Notch信号传导因子NICD的表达明显减少, 并降低CSCs的形成, 对胶质瘤患者具有有效的靶向作用。尼替丁氯化物通过抑制Hh通路从而减少CSCs的形成并消除乳腺癌的EMT^[79]。盐霉素已被证明可通过抑制钾流量以及靶向Wnt和STAT3信号通路抑制CSCs自我更新的特性来选择性杀死干细胞^[80]。免疫疗法是通过重新启动并维持肿瘤-免疫循环, 恢复机体正常的抗肿瘤免疫反应, 从而控制与清除肿瘤的一种治疗方法, 目前主要包括免疫检查点阻断(immune checkpoint blockade, ICB)、单克隆抗体、疫苗接种、T细胞治疗和天然免疫反应的激活。机体对免疫检查点疗法的抵抗被认为是由CSCs引起的。研究表明, CSCs具有逃避免疫系统的能力^[81]。WU等^[82]发现, PD-1的过度表达可能是CSCs能够逃避免疫系统的原因。BRUTTEL等^[83]的研究表明, CSCs通过减少表达T细胞识别所需的分子来逃避免疫系统。许多可以抑制免疫检查点的候选药物现在正在被使用或被进行不同水平的临床试验。目前较成功的免疫疗法来自于PD-1途径的抗体单独使用或与其他方法联合使用。当T细胞受体与癌细胞结合时, PD-1的表达被触发。反过来, PD-1与癌细胞上的PD-L1结合, 导致T细胞耗竭。T细胞的耗竭抑制了抗癌细胞毒性T细胞反应^[84]。另一个有希望的治疗包括使用抗CTLA4的抗体^[85]。通过使用抗体阻断免疫检查点, 允许T细胞增殖并识别癌细胞表面的抗原, 促进癌细胞的杀伤以达到有效的免疫治疗。此外, 最近的研究发现, miRNA可以靶向EMT和CSCs。例如: miR-509-5p和miR-1243的过表达通过抑制EMT相关基因的表达而增加了E-钙黏蛋白的表达, 并且这些miRNAs和吉西他滨的组合增加了药物敏感性^[86]。miR-195-5p在DLD1和HCT116结肠癌细胞中的过度表达抑制了细胞生长、集落形成、侵袭和迁移, 而miR-195-5p功能的抑制导致了异常的细胞增殖、迁移、侵袭和EMT^[87]。

5 总结与展望

尽管我们在肿瘤的诊断、化疗、放疗以及外科治疗等方面已经取得了重大进展,但肿瘤的复发和转移仍然是需要克服的主要障碍。由于微环境中的物质复杂多样,各种物质之间相互作用,信号通路交叠成网,还有许多物质与EMT和CSCs的相互作用机制及调控关系尚不明确。根据目前以CSCs模型对EMT过程的研究发现,EMT是上皮细胞向具有干细胞样特性的准间充质细胞转变的高度动态过程,其赋予上皮细胞运动和侵袭能力增强、对多种治疗策略抵抗以及产生免疫逃避和免疫抑制的特性。大部分的研究已经发现,肿瘤在进展过程中只经历部分的EMT。然而,导致这种部分EMT样状态的精确的环境信号仍然难以确定。此外,细胞在这种部分状态下的稳定性同样也是未知的。因此,需要进一步探索其形成机制。肿瘤细胞仅有一小部分由CSCs组成,而大部分由分化的肿瘤细胞组成,且两种肿瘤细胞群体之间存在固有差异,化疗药物很可能仅在分化程度更高的肿瘤细胞中有效或诱导凋亡反应,从而使CSCs具有生存优势。传统疗法的失败甚至导致肿瘤细胞的基因型和表型改变,这与EMT的激活和CSCs的生成紧密相关,从而导致疾病进展和较差的预后。因此,需要进一步完善其形成机制,建立优化模型来更好地观察EMT和CSCs的发生机制,从而根据已知的细胞因子和信号转导通路来研发肿瘤靶向药物,为更有效的靶向治疗开辟新的途径。

参考文献 (References)

- PIETILA M, IVASKA J, MANI S A. Whom to blame for metastasis, the epithelial-mesenchymal transition or the tumor microenvironment [J]? *Cancer Lett*, 2016, 380(1): 359-68.
- SHIBUE T, WEINBERG R A. EMT, CSCs, and drug resistance: the mechanistic link and clinical implications [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(10): 611-29.
- LORENZO-SANZ L, MUNOZ P. Tumor-infiltrating immunosuppressive cells in cancer-cell plasticity, tumor progression and therapy response [J]. *Cancer Microenviron*, 2019, 12(2/3): 119-32.
- STONE R, PASTAR I, OJEH N, et al. Epithelial-mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis [J]. *Cell Tissue Res*, 2016, 365(3): 495-506.
- CELIA-TERRASSA T, KANG Y. Distinctive properties of metastasis-initiating cells [J]. *Genes Dev*, 2016, 30(8): 892-908.
- DONGRE A, WEINBERG R A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(2): 69-84.
- LAU E Y, HO N P, LEE T K. Cancer stem cells and their microenvironment: biology and therapeutic implications [J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 3714190.
- YADAV A K, DESAI N S. Cancer stem cells: acquisition, characteristics, therapeutic implications, targeting strategies and future prospects [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2019, 15(3): 331-55.
- DOHERTY M R, SMIGIEL J M, JUNK D J, et al. Cancer stem cell plasticity drives therapeutic resistance [J]. *Cancers*, 2016, 8(1): 8.
- YE X, TAM W L, SHIBUE T, et al. Distinct EMT programs control normal mammary stem cells and tumour-initiating cells [J]. *Nature*, 2015, 525(7568): 256-60.
- AIELLO N, MADDIPATI R, NORGARD R, et al. EMT subtype influences epithelial plasticity and mode of cell migration [J]. *Dev Cell*, 2018, 45(6): 681-95, e684.
- BRABLETZ T, JUNG A, HERMANN K, et al. Nuclear overexpression of the oncoprotein β -catenin in colorectal cancer is localized predominantly at the invasion front [J]. *Pathol Res Pract*, 1998, 194(10): 701-4.
- WILLIAMS E D, GAO D, REDFERN A, et al. Controversies around epithelial-mesenchymal plasticity in cancer metastasis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(12): 716-32.
- LU W, KANG Y. Epithelial-mesenchymal plasticity in cancer progression and metastasis [J]. *Dev Cell*, 2019, 49(3): 361-74.
- PASTUSHENKO I, BLANPAIN C. EMT transition states during tumor progression and metastasis [J]. *Trends Cell Biol*, 2019, 29(3): 212-26.
- JOLLY M K, BOARETO M, HUANG B, et al. Implications of the hybrid epithelial/mesenchymal phenotype in metastasis [J]. *Front Oncol*, 2015, 5: 155.
- YU M, BARDIA A, WITTNER B S, et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition [J]. *Science*, 2013, 339(6119): 580-4.
- FABISIEWICZ A, GRZYBOWSKA E. CTC clusters in cancer progression and metastasis [J]. *Med Oncol*, 2017, 34(1): 12.
- JOLLY M K, SOMARELLI J A, SHETH M, et al. Hybrid epithelial/mesenchymal phenotypes promote metastasis and therapy resistance across carcinomas [J]. *Pharmacol Therapeut*, 2019, 194: 161-84.
- SAHA M, KUMAR S, BUKHARI S, et al. AMPK-AKT double-negative feedback loop in breast cancer cells regulates their adaptation to matrix deprivation [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(6): 1497-510.
- GOLDMAN A, MAJUMDER B, DHAWAN A, et al. Temporally sequenced anticancer drugs overcome adaptive resistance by targeting a vulnerable chemotherapy-induced phenotypic transition [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6139.
- QIAN Y, YAO W, YANG T, et al. aPKC- ν P-Sp1/Snail signaling induces epithelial-mesenchymal transition and immunosuppression in cholangiocarcinoma [J]. *Hepatology*, 2017, 66(4): 1165-82.
- KUDO-SAITO C, SHIRAKO H, TAKEUCHI T, et al. Cancer metastasis is accelerated through immunosuppression during Snail-induced EMT of cancer cells [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(3): 195-206.
- KUDO-SAITO C, SHIRAKO H, OHIKE M, et al. CCL2 is critical for immunosuppression to promote cancer metastasis [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2013, 30(4): 393-405.

- [25] NOMAN M Z, JANJI B, ABDOU A, et al. The immune checkpoint ligand PD-L1 is upregulated in EMT-activated human breast cancer cells by a mechanism involving ZEB-1 and miR-200 [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(1): e1263412.
- [26] FRUCI D, BENEVOLO M, CIFALDI L, et al. Major histocompatibility complex class i and tumour immuno-evasion: how to fool t cells and natural killer cells at one time [J]. *Curr Oncol*, 2012, 19(1): 39-41.
- [27] JAYACHANDRAN A, DHUNGEL B, STEEL J C. Epithelial-to-mesenchymal plasticity of cancer stem cells: therapeutic targets in hepatocellular carcinoma [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1): 74.
- [28] BOCCI F, GEARHART-SERNA L, BOARETO M, et al. Toward understanding cancer stem cell heterogeneity in the tumor micro-environment [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(1): 148-57.
- [29] WELLNER U, SCHUBERT J, BURK U C, et al. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(12): 1487-95.
- [30] WU M J, CHEN Y S, KIM M R, et al. Epithelial-mesenchymal transition directs stem cell polarity via pegulation of mitofusin [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(4): 993-1002, e1006.
- [31] BU Y, CAO D. The origin of cancer stem cells [J]. *Front Biosci*, 2012, 4: 819-30.
- [32] KIM J, ORKIN S H. Embryonic stem cell-specific signatures in cancer: insights into genomic regulatory networks and implications for medicine [J]. *Genome Med*, 2011, 3(11): 75.
- [33] Yadav A K, Desai N S. Cancer stem cells: acquisition, characteristics, therapeutic implications, targeting strategies and future prospects [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2019, 15(3): 331-55.
- [34] SCHATTON T, SCHUTTE U, FRANK N, et al. Modulation of T-cell activation by malignant melanoma initiating cells [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(2): 697-708.
- [35] ARCE-SILLAS A, ALVAREZ-LUQUIN D, TAMAYA-DOMINGUEZ B, et al. Regulatory T cells: molecular actions on effector cells in immune regulation [J]. *J Immunol Res*, 2016, 2016(3): 1-12.
- [36] MACCALLI C, VOLONTE A, CIMMINIELLO C, et al. Immunology of cancer stem cells in solid tumours: a review [J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(3): 649-55.
- [37] LI C, WANG J, KONG J, et al. GDF15 promotes EMT and metastasis in colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1): 860-72.
- [38] SHI M, LIU Z W, WANG F S. Immunomodulatory properties and therapeutic application of mesenchymal stem cells [J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 164(1): 1-8.
- [39] ZHANG D, TANG D G, RYCAJ K. Cancer stem cells: regulation programs, immunological properties and immunotherapy [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52(Pt 2): 94-106.
- [40] CRISTINA M, KAKIL LBRAHIM R, MAMOUN E, et al. The role of cancer stem cells in the modulation of anti-tumor immune responses [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 53: 189-200.
- [41] KHOSRAVI N, MOKHTARZADEH A, BAGHBANZADEH A, et al. Immune checkpoints in tumor microenvironment and their relevance to the development of cancer stem cells [J]. *Life Sci*, 2020, doi: 10.1016/j.lfs.2020.118005.
- [42] CASTAGNOLI L, CANCELILA V, CORDOBA-ROMERO S, et al. WNT signaling modulates PD-L1 expression in the stem cell compartment of triple-negative breast cancer [J]. *Oncogene*, 2019, 38(21): 4047-60.
- [43] GIANCIECCHI E, FIERABRACCI A. Inhibitory receptors and pathways of lymphocytes: the role of PD-1 in Treg development and their involvement in autoimmunity onset and cancer progression [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2374.
- [44] MACCALLI C, RASUL K I, ELAWAD M, et al. The role of cancer stem cells in the modulation of anti-tumor immune responses [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 53: 189-200.
- [45] MARIA M H, ALVIN V N, STEPHEN L, et al. Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(10): 4827-33.
- [46] BARTUCCI M, SVENSSON S, ROMANIA P, et al. Therapeutic targeting of Chk1 in NSCLC stem cells during chemotherapy [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(5): 768-78.
- [47] BAO S, WU Q, MCLENDON R E, et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response [J]. *Nature*, 2006, 444(7120): 756-60.
- [48] TAO J. Expression levels of Fas/Fas-L mRNA in human brain glioma stem cells [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5(5): 1202-6.
- [49] KIM R, EMI M, TANABE K. Role of mitochondria as the gardens of cell death [J]. *Cancer Chemoth Pharm*, 2006, 57(5): 545-53.
- [50] TAKEBE N, HARRIS P J, WARREN R Q, et al. Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8(2): 97-106.
- [51] LIU L, ZHU H, LIAO Y, et al. Inhibition of Wnt/ β -catenin pathway reverses multi-drug resistance and EMT in Oct4/Nanog NSCLC cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110225.
- [52] PATEL S, ALAM A, PANT R, et al. Wnt signaling and its significance within the tumor microenvironment: novel therapeutic insights [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2872.
- [53] JUNG DA H, BAE YOO J, KIM J H, et al. HER2 regulates cancer stem cell activities via the Wnt signaling pathway in gastric cancer cells [J]. *Oncology*, 2019, 97(5): 311-8.
- [54] SHAN S M, LV Q, ZHAO Y L, et al. Wnt/ β -catenin pathway is required for epithelial to mesenchymal transition in CXCL12 over expressed breast cancer cells [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(10): 12357-67.
- [55] HUANG M, ZHANG D, WU J, et al. Wnt-mediated endothelial transformation into mesenchymal stem cell-like cells induces chemoresistance in glioblastoma [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(532): eaay7522.
- [56] ZHU J, WANG S, CHEN Y, et al. miR-19 targeting of GSK3 β mediates sulforaphane suppression of lung cancer stem cells [J]. *J Nutr Biochem*, 2017, 44: 80-91.
- [57] FAN D, REN B, YANG X, et al. Upregulation of miR-501-5p activates the wnt/ β -catenin signaling pathway and enhances stem cell-like phenotype in gastric cancer [J]. *J Exp Clin Cane Res*, 2016, 35(1): 177.
- [58] PENG S J, SONG C C, LI H, et al. Circular RNA SNX29 sponges miR-744 to regulate proliferation and differentiation of myoblasts by activating the Wnt5a/Ca signaling pathway [J]. *Mol Ther Nucl Acids*, 2019, 16: 481-93.
- [59] HUANG Y H, HU J, CHEN F, et al. ID1 mediates escape from TGF β tumor suppression in pancreatic cancer [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(1): 142-57.
- [60] DAVID C J, HUANG Y H, CHEN M, et al. TGF- β tumor suppression through a lethal EMT [J]. *Cells*, 2016, 164(5): 1015-30.

- [61] SU J, MORGANI S M, DAVID C J, et al. TGF- β orchestrates fibrogenic and developmental EMTs via the RAS effector RREB1 [J]. *Nature*, 2020, 577(7791): 566-71.
- [62] KATSUNO Y, QIN J, OSES-PIETO J, et al. Arginine methylation of SMAD7 by PRMT1 in TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition and epithelial stem-cell generation [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(34): 13059-72.
- [63] KATSUNO Y, MEYER D S, ZHANG Z, et al. Chronic TGF- β exposure drives stabilized EMT, tumor stemness, and cancer drug resistance with vulnerability to bitopic mTOR inhibition [J]. *Sci Signal*, 2019, 12(570): eaau8544.
- [64] JIN W. Role of JAK/STAT3 Signaling in the regulation of metastasis, the transition of cancer stem cells, and chemoresistance of cancer by epithelial-mesenchymal transition [J]. *Cells*, 2020, 9(1): 217.
- [65] JOHNSON D E, OKEEFE R A, GRANDIS J R. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(4): 234-48.
- [66] FERRAND A, KOWALSKI-CHAUVEL A, BERTRAND C, et al. Involvement of JAK2 upstream of the PI 3-kinase in cell-cell adhesion regulation by gastrin [J]. *Exp Cell Res*, 2004, 301(2): 128-38.
- [67] YU Z, LI Z, WANG C, et al. Oncostatin M receptor, positively regulated by SP1, promotes gastric cancer growth and metastasis upon treatment with Oncostatin M [J]. *Gastric Cancer*, 2019, 22(5): 955-66.
- [68] AVALLE L, INCARNATO D, SAVINO A, et al. MicroRNAs-143 and -145 induce epithelial to mesenchymal transition and modulate the expression of junction proteins [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(10): 1750-60.
- [69] CHATTERJEE S, SIL P C. Targeting the crosstalks of Wnt pathway with Hedgehog and Notch for cancer therapy [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 142: 251-61.
- [70] YANG Z, ZHANG C, QI W, et al. GLI1 promotes cancer stemness through intracellular signaling pathway PI3K/Akt/NF κ B in colorectal adenocarcinoma [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 373(1/2): 145-54.
- [71] BHURIA V, XING J, SCHOLTA T, et al. Hypoxia induced Sonic Hedgehog signaling regulates cancer stemness, epithelial-to-mesenchymal transition and invasion in cholangiocarcinoma [J]. *Experimental Cell Res*, 2019, 385(2): 111671.
- [72] MA Y, YU W, SHRIVASTAVA A, et al. Inhibition of pancreatic cancer stem cell characteristics by alpha-mangostin: molecular mechanisms involving Sonic hedgehog and Nanog [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(4): 2719-30.
- [73] JING L, RUAN Z, SUN H, et al. Epithelial-mesenchymal transition induced cancer-stem-cell-like characteristics in hepatocellular carcinoma [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 18448-58.
- [74] ZHANG Z, DONG Z, LAUXEN I S, et al. Endothelial cell-secreted EGF induces epithelial to mesenchymal transition and endows head and neck cancer cells with stem-like phenotype [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(10): 2869-81.
- [75] LI D. The Notch ligand Jagged1 as a target for anti-tumor therapy [J]. *Front Oncol*, 2014, 4: 254.
- [76] BU P, CHEN K Y, CHEN J H, et al. A microRNA miR-34a-regulated bimodal switch targets Notch in colon cancer stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(5): 602-15.
- [77] BRABLETZ S, BAJDAK K, MEIDHOF S, et al. The ZEB1/miR-200 feedback loop controls Notch signalling in cancer cells [J]. *EMBO J*, 2011, 30(4): 770-82.
- [78] XU R, SHIMIZU F, HOVINGA K, et al. Molecular and clinical effects of notch inhibition in glioma patients: a phase 0/I trial [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(19): 4786-96.
- [79] SUN M, ZHANG N, WANG X, et al. Hedgehog pathway is involved in nitidine chloride induced inhibition of epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells-like properties in breast cancer cells [J]. *Cell Biosci*, 2016, 6: 44.
- [80] GUPTA P, ONDER T, JIANG G, et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening [J]. *Cells*, 2009, 138(4): 645-59.
- [81] TALUKDAR S, BHOOPATHI P, EMDAD L, et al. Dormancy and cancer stem cells: an enigma for cancer therapeutic targeting [J]. *Adv Cancer Res*, 2019, 141: 43-84.
- [82] DZOBO K, SENTHEBANE D A, GANZ C, et al. Advances in therapeutic targeting of cancer stem cells within the tumor micro-environment [J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1896.
- [83] BRUTTEL V S, WISCHHUSEN J. Cancer stem cell immunology: key to understanding tumorigenesis and tumor immune escape [J]? *Front Immunol*, 2014, 5: 360.
- [84] OKAZAKI T, CHIKUMA S, IWAI Y, et al. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application [J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(12): 1212-8.
- [85] DU X, LIU M, SU J, et al. Uncoupling therapeutic from immunotherapy-related adverse effects for safer and effective anti-CTLA-4 antibodies in CTLA4 humanized mice [J]. *Cell Res*, 2018, 28(4): 433-47.
- [86] HIRAMOTO H, MURAMATSU T, ICHIKAWA D, et al. miR-509-5p and miR-1243 increase the sensitivity to gemcitabine by inhibiting epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4002.
- [87] SUN M, SONG H, WANG S, et al. Integrated analysis identifies microRNA-195 as a suppressor of Hippo-YAP pathway in colorectal cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 79.