

# EMT 的表观遗传调控在癌症进程中的研究进展

张建超 李红昌

(中国科学院深圳先进技术研究院生物医药与技术研究所 深圳 518055)

**摘 要** 上皮-间质转化(Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT)是上皮细胞通过特定程序转变为间充质细胞的形态学过程,在癌症侵袭-转移级联过程中发挥着重要的作用。在癌症进程中,肿瘤细胞会经过一系列动态和可逆的细胞表型变化。EMT 程序的这种可塑性提示表观遗传调控在这一过程中发挥着重要的作用。EMT 相关的转录因子能够通过调控关键靶基因的表达,从而调节 EMT 程序。这些主要的 EMT 诱导因子依赖于表观遗传调控机制,从而调节 EMT 过程中基因表达变化。因此理解 EMT 调控的表观遗传机制有助于我们更好地了解肿瘤转移的分子机制,为恶性肿瘤的治疗提供新的靶点和思路。

**关键词** 上皮-间质转化; 癌症转移; 表观遗传调控; 组蛋白修饰; DNA 甲基化  
**中图分类号** Q1 文献标志码 A

## The Epigenetic Regulation of Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer Progression

ZHANG Jianchao LI Hongchang

(Institute of Biomedicine and Biotechnology, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

**Abstract** Epithelial-mesenchymal transition (EMT), a morphologic program in which cells convert from the epithelial to the mesenchymal state, plays a pivotal role during malignant tumor invasion-metastasis cascade. During the cancer progression, tumor cells undergo a series of dynamic and reversible cell phenotypic states transitions. Phenotypic plasticity of EMT program implies that epigenetic regulators play crucial roles in this process. Several EMT transcription factors can modulate EMT through regulating expression of the key target genes. These master EMT inducers orchestrate EMT program depending on complex epigenetic regulatory mechanisms. Therefore, understanding of epigenetic mechanisms controlling EMT will provide critical insights into the fundamental mechanisms underlying cancer metastasis, and new therapeutic targets for the treatment of malignant tumor.

**Keywords** epithelial-mesenchymal transition; cancer metastasis; epigenetic regulation; histone modification; DNA methylation

## 1 引 言

上皮-间质转化(Epithelial-Mesenchymal

Transition, EMT)是胚胎发育过程中必需的形态变化,已有的研究表明 EMT 过程的失调在肿瘤转移的早期发挥着重要的作用<sup>[1,2]</sup>。癌细胞在体内处于不同的细胞形态,包括从分化的上皮细胞

收稿日期: 2015-03-02 修回日期: 2015-05-08

作者简介: 张建超, 博士, 研究方向为乳腺癌发生发展的分子机制; 李红昌(通讯作者), 博士, 研究员, 研究方向为细胞不对称分裂的分子机制, E-mail: hc.li@siat.ac.cn。

到去分化的间质细胞中的各种形态,且不同的细胞形态具有不同的功能和特征。在原位瘤,癌细胞主要表现为上皮样的细胞形态,但为了侵袭转移到远端组织,最终形成转移灶,需要转变成更加间质样的细胞形态。这种转变就需要激活复杂的细胞生物学程序 EMT。在 EMT 过程中,癌细胞从分化的、非运动的上皮细胞,失去细胞-细胞粘附和细胞极性,转变为间质样的细胞形态,获得迁移、侵袭和干细胞的特征<sup>[3-6]</sup>。

目前,已有大量的人类肿瘤和实验动物模型证明 EMT 在肿瘤发生和转移过程中具有重要功能<sup>[7-9]</sup>。EMT 过程在胚胎发育和癌症进程中的本质区别在于癌细胞中的基因是异常表达的,并逐渐地失去了对正常生长调节信号的应答,从而获得了恶性进化的能力。因此,在分化的癌细胞发展为更加恶性的肿瘤细胞过程中,EMT 为鉴定发挥重要功能的基因,提供了一个新的方法和思路。

在原位瘤,各种各样的微环境刺激(如 TGF $\beta$ 、Wnt、Notch 和 TNF $\alpha$  等)能够以自分泌或旁分泌的方式激活一系列胞内的信号级联从而维持 EMT 程序<sup>[10,11]</sup>。一系列的研究表明, TGF $\beta$  信号无论在胚胎发育还是癌症进程中都是最主要的 EMT 诱导因子<sup>[12,13]</sup>。在肿瘤微环境多种信号的刺激下, TGF $\beta$  功能性的激活癌细胞中许多 EMT 诱导转录因子,从而维持 EMT 的发生。已有的研究表明,在上皮细胞单独过表达 EMT 诱导转录因子能够启动 EMT 程序。目前已经发现的 EMT 转录因子有 SNAIL、TWIST、ZEB1、ZEB2、FOXC1、FOXC2、FOXQ1、KLF8、LBX1 和 SIX1 等,并且研究表明这些转录因子在侵袭性肿瘤中高表达<sup>[14-23]</sup>。因此,虽然说 EMT 是由胞外信号诱导的,但这些信号似乎会协同诱导胞内 EMT 相关转录因子的表达,从而激活 EMT 程序。

通过 EMT 程序,癌细胞获得完成侵袭-转移级联的能力。这个级联过程包括癌细胞从原位瘤脱离,浸润到邻近的组织,并内渗进入血管或淋

巴管,在血管或淋巴管扩散、外渗,最终在远端器官生长。获得间质特征的癌细胞在转移灶,需要适应新的组织微环境,因此会通过 EMT 程序转变成上皮样的细胞形态<sup>[24,25]</sup>。因此,癌细胞在侵袭-转移级联过程中通过 EMT 和 EMT 程序发生一系列变化,强调了 EMT 的可塑性,并涉及到广泛的基因表达重编程,提示表观遗传调控在这一过程中发挥着重要的作用。

## 2 EMT 和表观遗传调控

表观遗传修饰主要有 DNA 甲基化、组蛋白修饰和 microRNA 三种类型。研究显示表观遗传修饰在调控 EMT 和癌症转移过程中发挥着关键作用<sup>[26]</sup>。在 EMT 过程中,细胞粘附分子 E-cadherin 的表达下调是 EMT 程序发生的一个重要特征。因此,通过表观遗传修饰对 E-cadherin 的表达进行精确调控对于 EMT 的发生至关重要。大量的研究显示,在激活 EMT 程序后,一些 EMT 相关的转录因子被招募到 E-cadherin 基因的启动子,从而抑制其转录<sup>[1,27,28]</sup>。但表观遗传修饰调控 EMT 的精确作用,目前还不是十分清楚。已有研究表明, E-cadherin 能够被多种组蛋白修饰酶协同作用,在不同程度上抑制 E-cadherin 基因启动子,从而沉默 E-cadherin 的表达<sup>[29,30]</sup>。可见, E-cadherin 的表观遗传沉默是非常复杂的。

### 2.1 组蛋白乙酰化和去乙酰化

组蛋白的乙酰化和去乙酰化是一个动态的可逆过程,两类重要的酶催化并调控这一过程,即组蛋白乙酰转移酶(Histone Acetyltransferase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(Histone Deacetylases, HDACs)。HAT 的主要功能是将乙酰辅酶 A 的乙酰基转移到组蛋白氨基末端特定的赖氨酸残基上。目前已经鉴定的 HAT 有 20 多种,主要有 p300/CBP 家族、GNAT 家

族、MYST 家族等。HDAC 使组蛋白去乙酰化, 从而和 DNA 紧密结合, 使基因的转录受到抑制, 目前发现的 HDAC 有 18 种, 包括 HDAC1-11 和 SirT1-7。

组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化, 能够导致染色质的结构疏松, 从而增强基因转录。Liu 等<sup>[31]</sup>报道转录因子 HNF3 能够协同 p300 和 AML-1 增强 E-cadherin 的表达, 从而抑制癌细胞的转移潜力。而在转移性的乳腺癌细胞稳定表达 HNF3, 能够恢复 E-cadherin 的表达, 并且细胞由间质细胞形态转变为上皮细胞形态<sup>[32,33]</sup>。这些结果表明 HNF3 能够协同 p300/CBP 上调 E-cadherin 的表达。由组蛋白去乙酰化酶 HDAC 介导的组蛋白去乙酰化能够导致染色质凝集和基因表达抑制。Peinado 等<sup>[34]</sup>研究显示 EMT 转录因子 SNAIL 的 SNAG 结构域能够和 HDAC1/2 以及辅抑制因子 mSin3A 形成复合物, 并结合到 E-cadherin 启动子上, 抑制其转录; 且当用组蛋白去乙酰化酶抑制剂 TSA 处理后, 能够显著地废除 SNAIL 对 E-cadherin 的抑制。此外也有研究表明 ZEB1 和 ZEB2 能够和 CtBP 辅抑制子复合物协同抑制 E-cadherin 启动子的转录<sup>[35,36]</sup>。这些研究表明 EMT 相关转录因子 SNAIL、ZEB1 和 ZEB2 能够招募特定的 HDAC 复合物, 在 EMT 和癌症转移过程中表观沉默 E-cadherin 基因的表达。

## 2.2 组蛋白甲基化和去甲基化

### 2.2.1 组蛋白甲基化和 EMT

组蛋白特定氨基酸的甲基化在基因表达激活或沉默中发挥重要的作用。其中组蛋白赖氨酸残基的甲基化广泛地在常染色质和异染色质区参与基因的激活和抑制。组蛋白 H3 的 K4、K9、K27、K36、K79 和 H4 的 K20 均可被甲基化。组蛋白的甲基化都是由组蛋白甲基转移酶完成的。这些酶包括 EZH2、G9a、Suv39h1/h2 和 MLL, 它们都含有 SET 结构域, 可以特异性地修饰组蛋白的不同位点。

Ploycomb 蛋白 (PcG) 在胚胎发育和干细胞分化过程中, 对染色质重塑和基因转录沉默起着重要作用。PcG 蛋白通过和其他的构架蛋白装配形成多亚基的 Ploycomb 抑制复合物 (PRCs) 来对组蛋白修饰以及招募其他一些抑制子从而沉默基因转录表达。PRC2 是其中一种 PcG 复合物, 其能够催化组蛋白 H3 第 27 位的赖氨酸三甲基化 (H3K27me3), 从而导致基因转录抑制。已有的研究表明 PRCs 能够表观调控 E-cadherin 表达<sup>[37-39]</sup>。Herranz 等<sup>[40]</sup>的研究表明在胰腺癌和结肠癌细胞中, SNAIL 能够和 PRC2 复合物的成员 EZH2 和 SUZ12 相互作用, 并定位到 E-cadherin 基因启动子上, 催化附近核小体的 H3K27me3, 继而沉默 E-cadherin 的转录。这些研究提示 EZH2 的失调和 EMT 以及癌症转移过程 E-cadherin 的抑制存在功能上的联系。

H3K9 的甲基化是异染色质形成和基因转录沉默的一个表观遗传标志。G9a 能够在常染色质介导 H3K9 的单甲基化和二甲基化 (H3K9me1 和 H3K9me2)<sup>[41,42]</sup>。Dong 等<sup>[43]</sup>的研究表明 SNAIL 能够和 G9a 相互作用, 并且能够招募 G9a 和 DNA 甲基转移酶到 E-cadherin 启动子区抑制其转录。且 SNAIL 和 G9a 的相互作用对于 G9a 在 E-cadherin 启动子的富集和 H3K9me2 是必需的: 当沉默 G9a 的表达时, 能够抑制 H3K9me2 和 DNA 甲基化, 并恢复 E-cadherin 的表达, 最终抑制乳腺肿瘤的生长和转移。组蛋白甲基转移酶 Suv39H1 能够催化 H3K9 的三甲基化 (H3K9me3), 其是典型的组成型异染色质标志<sup>[44]</sup>。Dong 等<sup>[45]</sup>研究显示 Suv39H1 能够和 SNAIL 的 SNAG 结构域相互作用, 并将其招募到 E-cadherin 启动子区, 介导附近核小体的 H3K9me3, 进而招募 DNMT3b 和 HDAC, 降低 E-cadherin 启动子 H3K9 的乙酰化, 并提高其 DNA 甲基化, 最终导致 SNAIL 介导的 E-cadherin 的抑制。这些研究提示 G9a 和

Suv39H1 在 EMT 转录因子 SNAIL 的帮助下能够协同在 E-cadherin 启动子去建立沉默的异染色质,从而有效地抑制其表达。

### 2.2.2 组蛋白去甲基化和 EMT

LSD1 是第一个被鉴定的组蛋白去甲基化酶,其能够催化组蛋白 H3 第四位赖氨酸(H3K4me2 和 H3K4me3)单甲基化和二甲甲基化的去除。研究表明 LSD1 在具有间充质特性的 ER 阴性乳腺癌中高表达,提示其可能促进 EMT 程序<sup>[46]</sup>。已有的研究显示在 SNAIL 诱导的人乳腺上皮细胞发生 EMT 过程中能够通过招募 LSD1,沉默上皮细胞基因 E-cadherin、claudins 和 cytokeratins 等的表达<sup>[47]</sup>。Lin 等<sup>[48]</sup>发现 SNAIL 能够通过其 SNAG 结构域和 LSD1 的 AO 结构域结合。有趣的是 SNAG 结构域和组蛋白 H3 的 N 末端尾部具有序列相似性,它们都具有丰富的带有正电荷的赖氨酸和精氨酸残基,从而使得 SNAIL 能够使用其类组蛋白 H3 的 SNAG 结构域作为一个分子钩,将 LSD1 钩住,并招募其他抑制子如 HDAC 和 CoREST 辅抑制子到 E-cadherin 启动子区,导致 H3K4 的去甲基化以及 H3 和 H4 的去乙酰化,从而起始对 E-cadherin 的转录抑制。另外,研究进一步显示沉默 SNAIL 和 LSD1 的表达能够显著抑制癌细胞的迁移,表明 SNAIL-LSD1 在 EMT 过程中具有重要作用。另外也有的研究发现和 LSD1 癌基因功能相冲突。Wang 等<sup>[49]</sup>的研究表明 LSD1 能够抑制乳腺癌细胞的侵袭能力,并抑制乳腺癌的转移。研究发现 LSD1 是 NuRD 复合物的一个成分,并且其在乳腺癌中表达下调,通过 ChIP-DSL 分析发现, TGF $\beta$ 1 是 LSD1/NuRD 复合物的下游转录靶基因,并且其和 LSD1 的表达水平呈负相关。这些相矛盾的结果可能要归咎于 LSD1 催化组蛋白赖氨酸底物的多样性。LSD1 既能够催化激活形式的标志 H3K4me2 或 H3K4me3 到更低激活形式 H3K4me1 从而导致基因激活的去除,也能够

催化抑制形式的标志 H3K9me3 到更低抑制形式 H3K9me1 或 H3K9me2,从而导致基因抑制的去除<sup>[50]</sup>。因此 LSD1 的功能可能在于其对不同基因激活或抑制调控的平衡。而这些相矛盾的结果可能源于其对 H3H4me3 和 H3K9me3 修饰的能力。

### 2.3 DNA 甲基化和 EMT

DNA 甲基化是导致基因高度稳定沉默的重要方式,其主要通过 DNA 甲基转移酶(DNMT),对 CpG 二核苷酸胞嘧啶的第 5 位碳原子加上甲基,从而抑制或关闭基因表达。其中, DNMT1 是一个维持性的甲基转移酶,即按照模板的甲基化模式,对新生的 DNA 链进行甲基化,将亲代的甲基化模式遗传给子代; DNMT3A 和 DNMT3B 是从头甲基转移酶,能够不依赖已有的甲基化 DNA 链而在一个新位点将 DNA 链中胞嘧啶 C5 甲基化,其主要在胚胎发育过程中形成新的甲基化修饰<sup>[51,52]</sup>。

E-cadherin 启动子超甲基化导致其表达的沉默在癌症进程中是一个重要的表观遗传学事件<sup>[53]</sup>。研究表明 SNAIL 能够通过招募 G9a、DNMT1、DNMT3A 和 DNMT3B 到 E-cadherin 启动子上,导致其启动子 DNA 甲基化,从而稳定关闭 E-cadherin 的表达<sup>[43]</sup>。另外 SNAIL 也能招募 Suv39H1 介导 E-cadherin 启动子 H3K9me3 为 DNMT3B 提供了停泊位点,导致 E-cadherin 启动子 DNA 甲基化<sup>[45]</sup>。这些研究似乎表明 H3K9 的甲基化,促进了 E-cadherin 启动子的 DNA 甲基化从而稳定沉默其表达。

以上提到的各种组蛋白修饰和 DNA 甲基化修饰是和 EMT 程序相一致的,即细胞由完全分化的上皮细胞转化为去分化的间质细胞,其不仅仅只是细胞形态的变化,而且通过表观遗传调控在染色质水平,伴随着细胞形态的改变,帮助细胞通过 EMT 过程的不同时期。最开始可能 H3K27me3 和 H3K4me3 在上皮细胞标志



E-cadherin 基因形成这种二价修饰, 从而为细胞创造了一个可塑性的状态; 接下来 H3K4me3 的缺失, 促进了组成型异染色质 H3K9me3 在 E-cadherin 启动子上的形成, 然后在持续 EMT 诱导信号的刺激下, H3K4me3 通过招募 DNMTs, 导致 E-cadherin 启动子 DNA 甲基化, 使其高度稳定的沉默, 最终形成稳定的间质细胞形态。

#### 2.4 MicroRNAs 和 EMT

MicroRNA 是一类长度约为 19~24 个核苷酸的非编码单链小分子 RNA。MicroRNA 在机体整个生命活动过程中具有广泛调节功能, 在生长发育、生理功能, 以及恶性肿瘤的发生发展等过程中具有重要作用。MicroRNA 通常以序列特异的方式识别靶基因 mRNA 的 3' 或 5' UTR, 从而抑制 mRNA 的翻译或降解特定的 mRNA。

MicroRNAs 能够以序列特异的方式调控基因的表达, 其在建立表观遗传程序中具有重要作用。一系列 microRNAs 能够通过转录后抑制 EMT 相关转录因子的 mRNA 表达, 从而维持上皮细胞形态<sup>[54]</sup>。研究显示 miR-200 家族(miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-141 和 miR-429) 和 miR-205 在 EMT 过程中都表达下调<sup>[54]</sup>。miR-200 家族和 miR-205 能够通过靶向 ZEB1 和 ZEB2 mRNA 的 3' 非翻译区, 从而维持上皮细胞表型。当 EMT 程序被激活后, ZEB1 和 ZEB2 又能够通过直接抑制 mir-200 的启动子, 降低 miR-200 家族的转录。miR-200 的降低解除了其对 ZEB1 和 ZEB2 的抑制, 从而维持了间质细胞的形态<sup>[55-58]</sup>。Iliopoulos 等<sup>[59]</sup>研究显示 miR-200 能够通过靶向 SUZ12 蛋白表达从而表观调控 E-cadherin。在乳腺癌干细胞中 miR-200 的缺失, 引起 SUZ12 表达上调, 导致了 PRC 介导的 E-cadherin 基因的抑制和 ZEBs 基因的上调。Eades 等<sup>[60]</sup>的研究发现在 TGF $\beta$  诱导的 EMT 过程中, 能够上调组蛋白去乙酰化酶 SIRT 的表

达, SIRT 进而通过 miR-200 启动子组蛋白去乙酰化抑制 miR-200 的转录。已有的研究显示在高度侵袭性的非小细胞肺癌、膀胱癌、乳腺癌中都观察到 miR-200 启动子区的超甲基化, 导致其稳定沉默; 而当用 DNA 去甲基化试剂处理, 能够解除 miR-200 启动子区的超甲基化, 并促进上皮细胞的再分化<sup>[61-64]</sup>。因此将 miR-200 类似物介入肿瘤治疗, 可能恢复细胞的上皮表型, 并抑制肿瘤的生长和转移。

### 3 表观遗传治疗和 EMT

已有的研究表明 EMT 和癌症干细胞具有极大的相关性。在癌症发展过程中, 癌症干细胞能够促进肿瘤的起始、复发和转移, 这类癌症干细胞展现出间质细胞的特征, 并且具有药物抗性, 从而为癌症临床治疗带来了困难<sup>[65,66]</sup>。目前, 对于表观遗传调控、癌症干细胞和 EMT 存在着分子联系的认识, 可能为肿瘤治疗提供了新的靶点。例如, 恢复表达上皮细胞相关的调节因子和 microRNAs, 可能帮助促进癌症干细胞分化成上皮细胞状态。DNMT 抑制剂 5-氮胞苷能够恢复上皮细胞特异 miR-200 的表达, 可能使癌症干细胞对于传统诱导分化的治疗药物更加敏感<sup>[61,64]</sup>。此外, 针对 SIRT1 的组蛋白去乙酰化酶抑制剂也可能促进 E-cadherin 和 miR-200 的表达<sup>[60,67]</sup>。已有大量的研究表明 DNMT 抑制剂 5-氮胞苷能够恢复 E-cadherin 的表达, 并逆转肿瘤细胞转变成上皮细胞表型<sup>[68,69]</sup>。Nam 等<sup>[70]</sup>发现 5-氮胞苷处理乳腺癌细胞 MDA-MB-435S, 能够恢复 E-cadherin 的表达并抑制其肿瘤生长和转移。有研究表明, HDAC 抑制剂在治疗一些肿瘤中具有疗效。如 HDAC 抑制剂丁酸盐能够诱导肿瘤细胞周期停滞和提高细胞-细胞粘附<sup>[71]</sup>。在结肠癌和子宫内膜癌, 丁酸盐也能够上调 E-cadherin 的表达<sup>[72,73]</sup>。此外, 其他 HDAC 抑制剂, 如 TSA

和 SAHA 也能够使子宫内皮癌上调 E-cadherin 的表达<sup>[73]</sup>。

虽然表观遗传治疗在一些特定类型的癌症中具有明显的临床效果,但这些药物对正常细胞生理和组织功能的长期效应仍有待进一步的讨论。已有研究显示 DNMT 抑制剂 5-氮胞苷处理 MCF7 能够增强细胞的肿瘤生成和转移的能力,并上调 EMT 相关基因的表达<sup>[74]</sup>。另外 DNMT1 缺陷的小鼠,能够导致染色体的不稳定,提高肿瘤的发生率<sup>[75-77]</sup>。另有研究显示在前列腺癌和鼻癌中,HDAC 抑制剂能够诱导 EMT 的发生,并促进肿瘤进程<sup>[78-79]</sup>。因而,目前对表观遗传治疗机制仍不十分清楚,对其应用还应仔细评估。

## 4 前 景

EMT 是一个高度动态的过程,除了上皮和间质两个极端的细胞状态外,还涉及到一系列的中间状态。EMT 导致这种细胞可塑性依赖于表观遗传调控,但目前我们对于 EMT 表观遗传调控的分子机制仍不十分清楚。因此,未来可能要更加精细地研究调控 EMT 中间状态的调节因子。并且这些中间状态的细胞可能更加接近人类癌症中一些典型的癌细胞。同时,这些研究也可能更加有助于我们理解 EMT 和 EMT 程序的起始,以及为我们研究起始这些程序的微环境信号提供一些线索。

表观遗传修饰酶能够和 EMT 相关的转录因子协同调控上皮和间质细胞状态的变化,调控 EMT 程序的转录因子、表观修饰酶、组蛋白以及 DNA 甲基化在全基因组的精确定位,绘制一幅调控 EMT 程序表观遗传图谱可能有助于我们从中发现一些新的转录调节因子以及辅因子参与 EMT 转录调控的各个时期,同样也为我们通过抑制 EMT 发生,防治肿瘤转移提供新的思路和治疗方法。

## 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] Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis [J]. *Developmental Cell*, 2008, 14(6): 818-829.
- [3] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2002, 2(6): 442-454.
- [4] Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2009, 9(4): 265-273.
- [5] Tsai JH, Yang J. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis [J]. *Genes & Development*, 2013, 27(20): 2192-2206.
- [6] Gupta GP, Massague J. Cancer metastasis: building a framework [J]. *Cell*, 2006, 127(4): 679-695.
- [7] Guo W, Keckesova Z, Donaher JL, et al. Slug and Sox9 cooperatively determine the mammary stem cell state [J]. *Cell*, 2012, 148(5): 1015-1028.
- [8] Scheel C, Eaton EN, Li SH, et al. Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast [J]. *Cell*, 2011, 145(6): 926-940.
- [9] Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells [J]. *Cell*, 2008, 133(4): 704-715.
- [10] Jung HY, Fattet L, Yang J. Molecular pathways: linking tumor microenvironment to epithelial-mesenchymal transition in metastasis [J]. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2015, 21(5): 962-968.
- [11] Jing Y, Han Z, Zhang S, et al. Epithelial-mesenchymal transition in tumor microenvironment [J]. *Cell & Bioscience*, 2011, 1, doi: 10.1186/2045-3701-1-29.
- [12] Zavadil J, Bottinger EP. TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions [J]. *Oncogene*, 2005, 24(37): 5764-5774.
- [13] Xu J, Lamouille S, Derynck R. TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition [J]. *Cell*

- Research, 2009, 19(2): 156-172.
- [14] Cano A, Perez-moreno MA, Rodrigo I, et al. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression [J]. *Nature Cell Biology*, 2000, 2(2): 76-83.
- [15] Yang J, Mani SA, Donaher JL, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis [J]. *Cell*, 2004, 117(7): 927-939.
- [16] Eger A, Aigner K, Sonderegger S, et al. DeltaEF1 is a transcriptional repressor of E-cadherin and regulates epithelial plasticity in breast cancer cells [J]. *Oncogene*, 2005, 24(14): 2375-2385.
- [17] Comijn J, Berx G, Vermassen P, et al. The two-handed E box binding zinc finger protein SIP1 downregulates E-cadherin and induces invasion [J]. *Molecular Cell*, 2001, 7(6): 1267-1278.
- [18] Ray PS, Wang J, Qu Y, et al. FOXC1 is a potential prognostic biomarker with functional significance in basal-like breast cancer [J]. *Cancer Research*, 2010, 70(10): 3870-3876.
- [19] Mani SA, Yang J, Brooks M, et al. Mesenchyme Forkhead 1 (FOXC2) plays a key role in metastasis and is associated with aggressive basal-like breast cancers [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(24): 10069-10074.
- [20] Qiao Y, Jiang X, Lee ST, et al. FOXQ1 regulates epithelial-mesenchymal transition in human cancers [J]. *Cancer Research*, 2011, 71(8): 3076-3086.
- [21] Wang X, Zheng M, Liu G, et al. Kruppel-like factor 8 induces epithelial to mesenchymal transition and epithelial cell invasion [J]. *Cancer Research*, 2007, 67(15): 7184-7193.
- [22] Yu M, Smolen GA, Zhang J, et al. A developmentally regulated inducer of EMT, LBX1, contributes to breast cancer progression [J]. *Genes & Development*, 2009, 23(15): 1737-1742.
- [23] Micalizzi DS, Christensen KL, Jedlicka P, et al. The Six1 homeoprotein induces human mammary carcinoma cells to undergo epithelial-mesenchymal transition and metastasis in mice through increasing TGF-beta signaling [J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2009, 119(9): 2678-2690.
- [24] Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis [J]. *Science*, 2011, 331(6024): 1559-1564.
- [25] Valastyan S, Weinberg RA. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms [J]. *Cell*, 2011, 147(2): 275-292.
- [26] Bedi U, Mishra VK, Wasilewski D, et al. Epigenetic plasticity: a central regulator of epithelial-to-mesenchymal transition in cancer [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(8): 2016-2029.
- [27] Wang Y, Zhou BP. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer progression and metastasis [J]. *Chinese Journal of cancer*, 2011, 30(9): 603-611.
- [28] Peinado H, Olmeda D, Cano A. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype? [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2007, 7(6): 415-428.
- [29] Lin Y, Dong C, Zhou BP. Epigenetic regulation of EMT: the Snail story [J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2014, 20(11): 1698-1705.
- [30] Wu CY, Tsai YP, Wu MZ, et al. Epigenetic reprogramming and post-transcriptional regulation during the epithelial-mesenchymal transition [J]. *Trends in Genetics: TIG*, 2012, 28(9): 454-463.
- [31] Liu YN, Lee WW, Wang CY, et al. Regulatory mechanisms controlling human E-cadherin gene expression [J]. *Oncogene*, 2005, 24(56): 8277-8290.
- [32] Soutoglou E, Papafotiou G, Katrakili N, et al. Transcriptional activation by hepatocyte nuclear factor-1 requires synergism between multiple coactivator proteins [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(17): 12515-12520.
- [33] Soutoglou E, Viollet B, Vaxillaire M, et al. Transcription factor-dependent regulation of CBP and P/CAF histone acetyltransferase activity [J]. *The EMBO Journal*, 2001, 20(8): 1984-1992.
- [34] Peinado H, Ballestar E, Esteller M, et al. Snail mediates E-cadherin repression by the recruitment of the Sin3A/histone deacetylase 1 (HDAC1)/HDAC2 complex [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2004, 24(1): 306-319.
- [35] Shi Y, Sawada J, Sui G, et al. Coordinated histone modifications mediated by a CtBP co-repressor complex [J]. *Nature*, 2003, 422(6933): 735-738.
- [36] 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]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278 (28): 26135-26145.
- [37] Sparmann A, Van Lohuizen M. Polycomb silencers control cell fate, development and cancer [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2006, 6 (11): 846-856.
- [38] Bracken AP, Helin K. Polycomb group proteins: navigators of lineage pathways led astray in cancer [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2009, 9 (11): 773-784.
- [39] Cao Q, Yu J, Dhanasekaran SM, et al. Repression of E-cadherin by the polycomb group protein EZH2 in cancer [J]. *Oncogene*, 2008, 27 (58): 7274-7284.
- [40] Herranz N, Pasini D, Diaz VM, et al. Polycomb complex 2 is required for E-cadherin repression by the Snail1 transcription factor [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2008, 28 (15): 4772-4781.
- [41] Brenner C, Fuks F. A methylation rendezvous: reader meets writers [J]. *Developmental Cell*, 2007, 12 (6): 843-844.
- [42] Tachibana M, Sugimoto K, Nozaki M, et al. G9a histone methyltransferase plays a dominant role in euchromatic histone H3 lysine 9 methylation and is essential for early embryogenesis [J]. *Genes & Development*, 2002, 16 (14): 1779-1791.
- [43] Dong C, Wu Y, Yao J, et al. G9a interacts with Snail and is critical for Snail-mediated E-cadherin repression in human breast cancer [J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2012, 122 (4): 1469-1486.
- [44] Dillon SC, Zhang X, Trievel RC, et al. The SET-domain protein superfamily: protein lysine methyltransferases [J]. *Genome Biology*, 2005, 6 (8): 227.
- [45] Dong C, Wu Y, Wang Y, et al. Interaction with Suv39H1 is critical for Snail-mediated E-cadherin repression in breast cancer [J]. *Oncogene*, 2013, 32 (11): 1351-1362.
- [46] Lim S, Janzer A, Becker A, et al. Lysine-specific demethylase 1 (LSD1) is highly expressed in ER-negative breast cancers and a biomarker predicting aggressive biology [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31 (3): 512-520.
- [47] Lin T, Ponn A, Hu X, et al. Requirement of the histone demethylase LSD1 in Snail-mediated transcriptional repression during epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncogene*, 2010, 29 (35): 4896-4904.
- [48] Lin Y, Wu Y, Li J, et al. The SNAG domain of Snail1 functions as a molecular hook for recruiting lysine-specific demethylase 1 [J]. *The EMBO Journal*, 2010, 29 (11): 1803-1816.
- [49] Wang Y, Zhang H, Chen Y, et al. LSD1 is a subunit of the NuRD complex and targets the metastasis programs in breast cancer [J]. *Cell*, 2009, 138 (4): 660-672.
- [50] Metzger E, Wissmann M, Yin N, et al. LSD1 demethylates repressive histone marks to promote androgen-receptor-dependent transcription [J]. *Nature*, 2005, 437 (7057): 436-439.
- [51] Cedar H, Bergman Y. Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigms [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10 (5): 295-304.
- [52] McCabe MT, Brandes JC, Vertino PM. Cancer DNA methylation: molecular mechanisms and clinical implications [J]. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2009, 15 (12): 3927-3937.
- [53] Lombaerts M, Van Wezel T, Philippo K, et al. E-cadherin transcriptional downregulation by promoter methylation but not mutation is related to epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer cell lines [J]. *British Journal of Cancer*, 2006, 94 (5): 661-671.
- [54] Gregory PA, Bracken CP, Bert AG, et al. MicroRNAs as regulators of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7 (20): 3112-3118.
- [55] Bracken CP, Gregory PA, Kolesnikoff N, et al. A double-negative feedback loop between ZEB1-SIP1 and the microRNA-200 family regulates epithelial-mesenchymal transition [J]. *Cancer Research*, 2008, 68 (19): 7846-7854.
- [56] Wellner U, Schubert J, Burk UC, et al. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs [J]. *Nature Cell Biology*, 2009, 11 (12): 1487-1495.
- [57] 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 [J]. *EMBO Reports*, 2008, 9 (6): 582-589.
- [58] 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 [J]. *Nature Cell Biology*, 2008, 10 (5): 593-601.
- [59] Iliopoulos D, Lindahl-Allen M, Polytarchou C, et al. Loss of miR-200 inhibition of Suz12 leads to polycomb-mediated repression required for the



- formation and maintenance of cancer stem cells [J]. *Molecular Cell*, 2010, 39(5): 761-772.
- [60] Eades G, Yao Y, Yang M, et al. miR-200a regulates SIRT1 expression and epithelial to mesenchymal transition (EMT)-like transformation in mammary epithelial cells [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(29): 25992-26002.
- [61] 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]. *Molecular Cancer Research*, 2010, 8(9): 1207-1216.
- [62] Wiklund ED, Bramsen JB, Hulf T, et al. Coordinated epigenetic repression of the miR-200 family and miR-205 in invasive bladder cancer [J]. *International Journal of Cancer. Journal International du Cancer*, 2011, 128(6): 1327-1334.
- [63] Neves R, Scheel C, Weinhold S, et al. Role of DNA methylation in miR-200c/141 cluster silencing in invasive breast cancer cells [J]. *BMC Research Notes*, 2010, 3: 219.
- [64] Vrba L, Jensen TJ, Garbe JC, et al. Role for DNA methylation in the regulation of miR-200c and miR-141 expression in normal and cancer cells [J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8697.
- [65] Scheel C, Weinberg RA. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: concepts and molecular links [J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2012, 22(5-6): 396-403.
- [66] Pattabiraman DR, Weinberg RA. Tackling the cancer stem cells-what challenges do they pose? [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2014, 13(7): 497-512.
- [67] Tryndyak VP, Beland FA, Pogribny IP. E-cadherin transcriptional down-regulation by epigenetic and microRNA-200 family alterations is related to mesenchymal and drug-resistant phenotypes in human breast cancer cells [J]. *International Journal Of Cancer. Journal International du Cancer*, 2010, 126(11): 2575-2583.
- [68] Corn PG, Smith BD, Ruckdeschel ES, et al. E-cadherin expression is silenced by 5' CpG island methylation in acute leukemia [J]. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2000, 6(11): 4243-4248.
- [69] Yoshiura K, Kanai Y, Ochiai A, et al. Silencing of the E-cadherin invasion-suppressor gene by CpG methylation in human carcinomas [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(16): 7416-7419.
- [70] Nam JS, Ino Y, Kanai Y, et al. 5-aza-2'-deoxycytidine restores the E-cadherin system in E-cadherin-silenced cancer cells and reduces cancer metastasis [J]. *Clinical & Experimental Metastasis*, 2004, 21(1): 49-56.
- [71] Kondo K, Kohno N, Yokoyama A, et al. Decreased MUC1 expression induces E-cadherin-mediated cell adhesion of breast cancer cell lines [J]. *Cancer Research*, 1998, 58(9): 2014-2019.
- [72] Barshishat M, Polak-Charcon S, Schwartz B. Butyrate regulates E-cadherin transcription, isoform expression and intracellular position in colon cancer cells [J]. *British Journal of Cancer*, 2000, 82(1): 195-203.
- [73] Takai N, Desmond JC, Kumagai T, et al. Histone deacetylase inhibitors have a profound antigrowth activity in endometrial cancer cells [J]. *Clinical Cancer Research : an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2004, 10(3): 1141-1149.
- [74] Ateeq B, Unterberger A, Szyf M, et al. Pharmacological inhibition of DNA methylation induces proinvasive and prometastatic genes in vitro and in vivo [J]. *Neoplasia*, 2008, 10(3): 266-278.
- [75] Gaudet F, Hodgson JG, Eden A, et al. Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation [J]. *Science*, 2003, 300(5618): 489-492.
- [76] Yang AS, Estecio MR, Garcia-Manero G, et al. Comment on "Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation" and "Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation" [J]. *Science*, 2003, 302(5648): 1153, author reply 1153.
- [77] Eden A, Gaudet F, Waghmare A, et al. Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation [J]. *Science*, 2003, 300(5618): 455.
- [78] Kong D, Ahmad A, Bao B, et al. Histone deacetylase inhibitors induce epithelial-to-mesenchymal transition in prostate cancer cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45045.
- [79] Jiang GM, Wang HS, Zhang F, et al. Histone deacetylase inhibitor induction of epithelial-mesenchymal transitions via up-regulation of Snail facilitates cancer progression [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013, 1833(3): 663-671.