核转录因子 Snail 调控上皮 - 间质转型机制的研究 *

李飞凤 周建华△ 胡永斌

(中南大学湘雅基础医学院病理学系 湖南 长沙 410013)

摘要：上皮 - 间质转型在纤维化及肿瘤侵袭转移中发挥着重要作用，多种因子作用于核转录因子 Snail 诱导细胞通路改变，以实现对上皮 - 间质转型进行调控。因此对 Snail 调控上皮 - 间质转化信号转导机制的研究，为发展新的治疗策略提供了重要信息。

关键词：Snail；纤维化；肿瘤；上皮 - 间质转化

中图分类号：R730.231 文献标识码：A 文章编号：1673-6273(2011)20-3961-03

Mechanism of Transcriptional Factor Snail on Epithelial-Mesenchymal Transition*

LI Fei-feng, ZHOU Jian-hua, HU Yong-bin

(Department of Pathology, Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha, 410013, China)

ABSTRACT: Epithelial cells serve as an important source of myofibroblasts through epithelial-mesenchymal transition (EMT) in fibrosis and tumor invasion and metastasis. Several factors act on snail and regulate the process of EMT. The studies on mechanism of transcriptional factor snail on epithelial-mesenchymal transition can supply important information for therapeutic strategy.

Key words: Snail; Fibrosis; Tumor; Epithelial-mesenchymal transition (EMT)

Chinese Library Classification(CLC):R730.231 Document code: A

Article ID:1673-6273(2011)20-3961-03

上皮 - 间质转型 (Epithelial to mesenchymal transition，EMT) 是一种基本的生理病理现象，在胚胎发育、慢性炎症、多种纤维化疾病 (如肾脏纤维化)、肿瘤侵袭转移等过程中发挥了重要的作用[1]。在发生 EMT 这一过程中，一个重要分子事件就是 E- 钙黏蛋白 (E-cad) 下调，而转录因子 Snail 可与 E-cad 启动子区结合从而抑制 E-cad 的表达[2]。本文就核转录因子 Snail 调控 EMT 机制的研究作一综述。

1 EMT 的概念及生理病理作用

长期以来上皮细胞被认为是终端分化的细胞，具有典型的顶面 - 底面极性，在动物成体中起保护支持及分泌等作用。近些年来发现在一些因素的作用下上皮细胞会失去细胞极性，丢失细胞间紧密连接和粘附连接，获得浸润性和迁移能力，具有间质细胞形态和特性，这种改变被定义为 EMT。因此 EMT 是以上皮细胞极性的丧失及其间质特性 (成纤维细胞样的外形，波形纤维蛋白、Snail、骨桥蛋白基因的表达) 的获得为主要特征，在形态学上发生成纤维细胞或间充质细胞的转化并获得迁移转移的能力[3,4]。它是一个复杂的动态过程，主要表现为[5]：一方面发生在细胞间，claudins、occludins、E-cad 等表达下降致细胞间紧密连接松解[6]，合成的细胞外基质水解酶使得细胞外成分发生降解，基质金属蛋白酶 MMP-2、MMP-9 蛋白表达下调；另一方面发生在细胞内，细胞出现细胞骨架重构，角蛋白(cytokeratin，CK)表达减少，细胞骨架肌动蛋白微丝(F-actin)重新组合，开始表达波形纤维蛋白(vimentin)[7]，导致细胞外形演变为纺锤形纤维细胞样，这些改变使得细胞的迁徙和侵袭能力增加，为生理病理现象的发生提供了理论基础。

2 Snail 家族生物学及生理病理作用

Snail 锌指蛋白超家族主要包括 snail-1 (snail) 和 snail-2 (slug)，结构特征具有相似性，均由一个高度保守的羧基末端及一个高度可变的氨基末端构成[8]。在胚胎发育期间，Snail 参与中胚层及神经嵴的发育，表达于原肠胚两侧细胞参与 EMT，进而迁移形成中胚层，并能抑制外胚层来源的基因表达[9]。Larue 等[10]描述在中胚层及神经嵴的前体中 Snail 触发了 EMT，促使各自从原条与神经管分层及随后的移动。

人 snail 主要表达于胎盘、胚胎中胚层、成人心、肝、骨骼肌及某些未分化组织[11]，具有调控细胞分化游动、循环及凋亡作用[12,13]。在动物和人肿瘤中，Snail 能够使细胞 E-cad、α、β、γ- 连环素等上皮细胞标志物表达降低或消失，上调成纤维细胞特异性蛋白 -1(fibroblast-specific protein-1, FSP1)、纤维结合蛋白(fibronectin)、vimentin、α-SMA 和 N- 连环素等多种间充质细胞标志蛋白的表达，侵袭和转移能力增强[6]。

3 EMT 与 snail 的分子靶点

Snail 家族参与 EMT 机制最先是在鸡胚的研究中发现的，它在胚胎发育过程中可作为中胚层和神经嵴细胞迁移能力的标志。Boutet 认为[14]Snail 超家族是重要的胚胎基因，胚胎分化为不同组织、器官的过程中需要 Snail 基因调节，而成人的 Snail 的激活则可以破坏上皮组织的完整性和稳定性。因此 Snail 的活化足以引起成人脏器的纤维化，被认为是慢性纤维

* 基金项目：国家自然科学基金(30700661)；湖南自然科学基金(06JJ2098)。

作者简介：李飞凤 (1983-)，女，硕士研究生，主要从事肺脏病理学的研究；电话：13755188923；E-mail：fei_jk456@126.com

△通讯作者：周建华，E-mail: zhoujh15@163.com

(收稿日期：2011-02-22 接受日期：2011-03-17)

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

化的关键因素，故 Snail 可能是 EMT 进程中的重要转录因子。

E-cad 是典型的单次跨膜糖蛋白，可以调节 Ca^{2+} 依赖性细胞之间的黏合，在发育、细胞极化和组织形成等方面发挥重要作用，E-cad 的表达下调或抑制会开启 EMT，并导致肿瘤的浸润及转移。Batlle 等[15]确定在许多肿瘤中 E-cad 被认为是 snail 直接作用的靶基因，Snail 通过直接与 E-cad 的启动子区域的 E-box 序列结合，使 E-cad 的表达下降或缺损，从而引发 EMT；在 MDCK (Madin-Darby canine kidney) 上皮细胞[16]、口腔癌[17]、肺癌 A549 细胞[18]等研究中均有此发现，表明 Snail 通过 E-cad 调控 EMT 发生和肿瘤的侵袭转移中发挥重要作用。此外 Zhang 等[19]的研究发现反义 Snail 阻止 EMT 的发生，而使 Snail 蛋白表达沉默时可逆转这一过程。同时在原肠胚形成期 Snail 的基因敲除使动物死亡并在 EMT 机制上表现出一些缺陷，不能进行 EMT[20]。上述研究均表明 Snail 通过直接抑制 E-cad 表达从而引发 EMT，E-cad 是 Snail 作用的重要分子靶点。

然而到目前为止除 E-cad 外，通过基因分析和过表达的实验又发现了一系列 Snail 可以直接或间接调节作用的候选分子靶点。在 EMT 过程中 Snail 可下调桥粒蛋白、上皮黏蛋白 1 和细胞角蛋白 18 等上皮标志分子，上调 vimentin 和纤连蛋白等间充质细胞标志分子。在 MDCK 细胞中 Snail 还可下调 claudin-1、occludins 和 ZO-1 等紧密连接蛋白的表达，使细胞间粘附紊乱，并抑制 Kgelsolin、NHE-RF、ABLIM-1、EPLIN 等细胞骨架成份表达，使细胞骨架重组[6]。ZHA 等[21]研究显示 Snail 对细胞 β-actin 结构稳定和重建有影响，并有利于细胞的运动迁徙、肌动蛋白细胞骨架重新排列和 α-SMA 诱导。Palmer 等[22]发现在人结肠癌中，维生素 D 受体 (vitaminD receptor，VDR)和 Snail 表达的平衡关系对于 E-cad 的表达调节也至关重要，VDR 可能是 Snail 抑制的靶基因之一。此外，转录因子 Snail 可以间接上调基质金属蛋白酶 (MMPS) 家族成员 MMP-1，MMP-2，MMP-7 的表达，抑制基质合成，加速基质成分分解，增加细胞的侵袭能力 [23,24]。因此 Snail 不仅具有诱发 EMT 的作用，还在肿瘤的侵袭、转移中起重要作用。

4 Snail 在 EMT 中参与的信号转导通路

在多数肿瘤形成和胚胎的形态发生过程中，EMT 可由 Snail 从不同途径得到启动。Snail 在这个过程中发挥核心作用，协调诱导不同的信号通路。有研究表明通过 smad 依赖通路和非 smad 依赖通路，在 snail 家族转录因子的调节下实现 EMT 的转变[25]。

4.1 TGF-β / smad 通路

TGF-β 是 EMT 的诱导剂，作用于受体丝 / 苏氨酸(Ser/Thr)激酶从而使胞浆的 Smads 活化入核，激活抑制 E-cad 的 Snail 家族诱导 EMT[26]。进入细胞核的 Smad 可与 LEF1 / T 细胞因子 (T-cell factor，TCF) 等其他转录蛋白一道调节 Snail 活性，Snail 阻抑 E-cad 释放更多 β- 连环蛋白，与 LEF-1 协同入核促进 EMT[27]。Sun 等[28]研究发现在口腔鳞状细胞癌研中 TGFβ-1 可引起 Snail 的过度表达，而 Snail 的过度表达又可引起细胞内 MMP-9 和 TIMP-1 表达的上调，从而引发 EMT，促进口腔癌侵袭转移的发生。在 TGF-β 诱导晶状体上皮细胞 EMT 的过程中，TGF-β 能通过活化 Smad2、3 和 Smad4，继而激活 snail 转录[29]。

4.2 丝裂原激活的蛋白激酶 (MAPK) 和 3- 磷酸磷脂酰肌醇 (PI3) 通路

非依赖 TGF-β / smad 的 MAPK 和 PI3 通路已被证实可以诱导 Snail 基因的表达，与紧密连接的丢失以及 E-cad 的部分丢失有关，在 EMT 进程中的糖原合成激酶 (GSK-3β) 磷酸化失活可减少 Snail 蛋白降解导致纤维化的发生[30]。活化的 MAPK 能直接抑制 GSK-3β 的活性，上调 Snail 的功能诱导 EMT。整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)是一个由整合素和细胞生长因子受体 Ser/Thr 激酶信号蛋白，活化的 ILK 可以直接磷酸化下游靶基因 Akt 和 GSK-3β，导致 GSK-3β 的活性被抑制，进而刺激 Wnt/β-catenin 通路和上调 Snail 水平[31]。同时 ILK 促进 PARP-1 与 Snaill 启动子结合，激活 Snaill 而抑制 E-cad 的表达 [32]。活化的 PI3K 产生第二信使 PIP3，继而活化 Ser/Thr 激酶 Akt，Akt 的磷酸化抑制 GSK-3β，继而上调 Snail 和 β-catenin，而且 PI3K/Akt 通路还可以与 TGF-β 信号通路共同影响 EMT 过程[26]。Yoshino[33]研究发现在单侧输尿管梗阻 (UUO) 大鼠模型中，Snail mRNA 表达增高依赖于 MAPK 和 PI3K 活性。

此外 NF - kappaB[34]、Ras/MAPK[11]等所介导的信号通路能诱导 Snail 表达 。Wnt 通路还能与 TGFB / Smad 通路中的物质相互作用，调节 Snaill 因子抑制 E-cad 的表达，激活 β-catenin / TCF / LEF1，间接导致 vimentin 和其他间质细胞基因产物的表达，参与 EMT 的发生[25]。

5 展望

综上所述，脏器的纤维化、肿瘤的发生发展及侵袭转移是多因素共同作用的复杂的病理过程，目前已发现多种分子机制参与 EMT 调控纤维化及肿瘤侵袭转移的发生和发展，其中 E-cad 介导的黏附系统的破坏是一个主要的事件。不同的实验方法已经证实 Snail 表达于 E-cad 缺失的纤维化、恶性肿瘤分化浸润区域中，与脏器的纤维、肿瘤的侵袭性转移性成正相关，与 E-cad 表达成负相关。从纤维化、肿瘤发生的观点来看揭示 Snail 的功能和调节机制，不仅对理解纤维化、肿瘤的发生转移是重要的，同时又能为临床治疗提供重要的信息。

然而，目前对 Snail 的研究仍有诸多问题不甚明确，比如是否还存在有其他的抑制子共同作用，以及 Snail 与这些潜在的共同调节子的相对浓度对决定细胞前后关系的重要性等；Snail 能否作为 EMT 的总的标志，其在脏器纤维化、肿瘤中的表达及诊断、预后意义与肿瘤类型是否有关等，均有待于进一步研究、论证。

参考文献(References)

[1] Ardeim LS，Aguilera A，Sanchez Tomero JA，et al. Epithelial to mesenchymal transition and peritoneal membrane failure in peritoneal dialysis patients：pathologic significance and potential therapeutic interventions [J]. J Am Soc Nephrol，2007，18(7)：2004-2013

[2] RayM E，Mehra R, Sandler HM, et al。E-cadherin protein expression predicts prostate cancer salvage radiotherapy outcomes [J].Jurol, 2006, 176(4)：1409-1414

[3] GuarinoM. Epithelial-mesenchymal transition and tumour invasion[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39(12)：2153-2160

[4] 徐江峰，罗庚求.上皮细胞间质转型与肿瘤转移[J].国际病理科学与肿瘤杂志，2007，27(5)：393-396

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

XU Jiang-feng,LUO Geng-qiu, Epithelial-mesenchymal transitions and tumor metastasis [J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2007,27(5):393-396

[5] 邹莎琳,凌光辉,夏运成等.EMT 在腹膜纤维化中的作用及意义[J].中国中西医结合肾病杂志,2009,10(7):645-648
ZHOU Sha-ling,LING Guang-hui,XIA Yun-cheng,et al. Epithelial to mesenchymal transition play a role in peritoneal fibrogenesis [J], Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology, 2009.10(7):645-648

[6] Ikenonchi J,MatstIda M,Furuse M,et a1. Regulation of tight junctions during the epithelium-mesenchyme transition:direct repression of the gene expression of claudins / occludin by Snail [J].JCeIl Sci, 2003, 116(10): 1959-1967

[7] Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: Pathologic significance,molecular mechanism,and therapeutic intervention [J]. J Am Soc Nephrol, 2004, 15(1): 1-12

[8] Hardy RG,Vicente-Duenas C,Gonza-Herrer I,et al.Snail family transcription factors are implicated in thyroid carcinogenesis [J]. J Pathol, 2007,171(3):1037-1046

[9] Fritzenwanker JH, Saina M, Technau U. Analysis of forkhead and snail expression reveals epithelial-mesenchymal transitions during embryonic and larval development of Nematostella vectensis [J].Dev Biol, 2004,275(2): 389-402

[10] Larue L, Bellcosa A.Epithelial-mesenchymal transition in development and cancer: role lfphosphatidylinositol-3- kinase/AKT pathway [J].Oncogene, 2005(24): 7442-7454

[11] Nieto MA. The snail superfamily of zinc-finger transcription factors [J]. NatRev Mol Cell Biol. 2002, 3(3): 155-166

[12] Blechschmidt K,Kremmer E,Hollweck R,et al.The E-cadherin repressor snail play a role in tumor progression of endometroid adenocarcinomas[J].Diagn Mol Pathol, 2007, 16(4): 222-228

[13] Becker KF,Rosivatz E,Blechmid K,et al.Analysis of the E-cadherin repressor snail in primary human cancers [J].Cell Tissues Organs, 2007,185(1):204-212

[14] BoutetA.Esteban MA.Maxwell PH,et al.Reactivation of Snail genes in renal fibrosis and carcinomas:a process of reversed embryogenesis [J].Cell Cycle, 2007, 6(6): 638-642

[15] Batlle E, Sancho E,Franci C, etal. The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumor cells[J]. Nat Cell Biol ,2000, 2(2): 84-89

[16] Bolos V, Peinado H, Perez-Moreno MA. The transcription factor Slug represses E-cadherin expression and induces epithelial- to-mesenchymal transitions: a comparison with Snail and E47 repressors [J]. J Cell Sci, 2003, 499-511

[17] Takkunen M, Grenman R, Hukkanen M, et al. Snail dependent and independent epithelial mesenchymal transition in oral squamous carcinoma cells [J]. J Histochem Cytochem, 2006, 54 (11):1263-1275

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

[19] Zhang A, Chen G, Meng L, et al. Antisense-Snail transfer inhibits tumor metastasis by inducing E-cadherin expression [J]. Anticancer Res, 2008, 28(2A): 621-628

[20] Carver EA , Jiang R , Lan Y, et al. The mouse Snail geneencodes a key regulator of the epithelial - mesenchymal transition [J] . Mol Cell Biol , 2001 , 21 (23): 8184-8188

[21] ZHA Yun Hong,MEI YuanWu,MAO Ling.The Advantages for Snail Expression to Promote Cell Migration and Induce Actin Reorganization and to Protect Against the Serum deprivation triggered Apoptosis of Bone Marrow Stem Cells [J].Journal of Biotechnology, 2007, 23(4): 645-651

[22] Palmer HG,Larriba MJ,Garcia JM,et al.The transcription factor SNAIL represses vitamin D receptor expression and responsiveness in human colon cancer [J].Nat Med 2004, 10: 917-919

[23] Miyoshi A,Kitajima Y,Sumi K,et al.Snail and SIPI increase cancer invasion by upregulation MMP family in hepatocellular carcinoma cells [J].Br J Cancer, 2004, 90: 1265-1273

[24] Przybylo JA,Radisky DC.Matrix metalloprpteinase-induced epithelial-mesenchymal transiton: tumor progression at Snail's pace [J].Int J Biochem Cell Biol,2007, 39(6): 1082-1088

[25] Xu J, Iamouine s; Derynck R.TGF-bet-induced epithelial to mesenchymal transition[J]. Cell Res, 2009, 19(2): 156-172

[26]徐娟,唐敏,曹亚.上皮 - 间质转化与肿瘤的浸润和转移[J].国际病理科学与临床杂志,2008,28(6):504-504
XU Juan,TANG Min,CAO Ya. Epithelial-mesenchymal transitions and invasion and metastasis of tumor [J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2008, 28(6): 504-504

[27] Medici D,Hay ED,Goodenough DA,et al.Cooperation between Snail and LEF-I factors is essential for TGF-betel-induced epithelial-mesenchymal transition [J]. Mol Biol Cell, 2006, 17(4): 1871-1879

[28] Sun L, Diamond ME, Ottaviano AJ, et al. Transforming growth factor betal promotes matrix metalloproteinase 9 mediated oral cancer invasion through snail expression [J].Mol Cancer Res, 2008,6(1):10-20

[29] ChoHJ, BaekKE, Saika S, et a.l Snail is required for transfor-ming growth factor- beta - induced epithelial-mesenchymal transition by activating PI3 kinase/Akt signal pathway [J]. Bio-chem BiophysResCommun, 2007, 353(2): 337-343

[30] B.P.Zhou,J. Deng,W.Xia, et al. Dual regulation of Snail by GSK-3 beta-mediated phosphorylation in control of epithelial-mesenchymal transition [J]. Nat Cell Biol, 2004, 6: 931-940

[31] Bachelder RE, Yoon S, Franci C, et a.l Glycogen synthase kinase-3 is an endogenous inhibitor of Snail transcription: implications for the epit helial-mesenchymal transition [J]. J Cell Biol,2005, 168 (1): 29-33

[32] Kim M Y,Zhang T,Kraus WL Poly(ADP-ribosy1)ation by PARP-1: PAR-laying NAD+ into a nucle signaI [J]. Genes Dev, 2005, 19(17): 195l-1967

[33] Yoshino J, Monkawa T, Tsuji M,et al. Snail1 is involved in the renal epithelial-mesenchymal transition [J].Biochem Biophys Res Commun , 2007, 362(1): 63-68

[34] BarberaMJ, Puig I, Dominguez D, et al. Regulation of Snail transcription during epithelial tomesenchymal transition of tumor cells[J].

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net