

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.04.012

· 临床研究 ·

OCT4 与 EMT 相关因子在浸润性乳腺癌组织中的表达及其临床意义

张超^a,任静文^b,梁迪^a,赵连梅^a,单保恩^a(河北医科大学第四医院 a. 科研中心;b. 检验科,河北石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 观察上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关因子 E-钙黏着蛋白(E-cadherin)和波形蛋白(vimentin)以及干细胞因子八聚体结合转录因子4(octamer-binding transcription factor 4, OCT4)在浸润性乳腺癌中的表达情况及 OCT4 与 E-钙黏着蛋白和波形蛋白的相关性。**方法:** 收集河北医科大学第四医院 2009 年手术切除的浸润性乳腺癌组织标本 40 例,实时荧光定量 PCR 和免疫组织化学法分别检测 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白的 mRNA 和蛋白的表达,分析其与临床病理特征的关系、OCT4 和 EMT 相关蛋白之间的相关性以及与浸润性乳腺癌患者生存率之间的关系。**结果:** 在浸润性乳腺癌组织中,OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白表达率分别为 30%(12/40)、55%(22/40)和 65%(26/40)。OCT4 表达与浸润性乳腺癌患者的年龄、组织学分级、淋巴结转移以及 Her-2 的表达有关,E-钙黏着蛋白表达与淋巴结转移有关,波形蛋白表达与组织学分级和淋巴结转移有关。OCT4 mRNA 和蛋白的表达与 E-钙黏着蛋白和 mRNA 蛋白的表达呈负相关,与波形蛋白 mRNA 和蛋白的表达呈正相关,而 E-钙黏着蛋白 mRNA 和蛋白的表达与波形蛋白 mRNA 和蛋白的表达也呈负相关。OCT4 表达阳性患者的生存率明显低于表达阴性患者,差异具有统计学意义($P < 0.05$);而 E-钙黏着蛋白和波形蛋白的表达与患者生存率之间未见明显相关性($P > 0.05$)。**结论:** 干细胞因子 OCT4 可能通过 EMT 促进浸润性乳腺癌细胞的转移,可能是影响浸润性乳腺癌预后的因素。

[关键词] 浸润性乳腺癌;八聚体结合转录因子4;上皮间质转化;淋巴结转移

[中图分类号] R737.9; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)04-0525-06

Expressions of OCT4 and EMT-associated factor in invasion breast cancer and their clinical significances

ZHANG Chao^a, REN Jingwen^b, LIANG Di^a, ZHAO Lianmei^a, SHAN Baoen^a(a. Scientific Research Centre; b. Department of Laboratory, Fourth Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To detect expressions of mRNAs and proteins for EMT-associated factors, E-cadherin and vimentin, and stem cell factor OCT4 in invasive breast cancer and correlation of OCT4 with E-cadherin and vimentin. **Method:** Forty samples of invasive breast cancer tissues were collected. Expressions of mRNAs and proteins for EMT-associated factors, E-cadherin and vimentin, and stem cell factor OCT4 were respectively detected by Real-time quantitative PCR and immune histochemistry assay. Relationship between expressions of the mRNA and the proteins, and survival rates and clinical pathological features of the patients with invasive breast cancer, and correlation of OCT4 with E-cadherin and vimentin, were analyzed. **Results:** In the invasive breast cancer tissues, expression rates of OCT4, E-cadherin and vimentin were 30% (12/40), 55% (22/40), and 65% (26/40) respectively. The expression of OCT4 was correlated with age, histological grade, lymph node metastasis and Her-2 expression of the patients with invasive breast cancer. Expression of E-cadherin was related with lymph node metastasis and expression of vimentin was related with histological grade and lymph node metastasis. Expressions of mRNA and protein for OCT4 and E-cadherin were negatively correlated. Expressions of mRNA and protein for OCT4 and vimentin were positively correlated. Also expressions of mRNA and protein for E-cadherin and vimentin were negatively correlated. Survival rates of the patients with positive expression of OCT4 were significantly lower than those of the patients with negative expression of OCT4 ($P < 0.05$). However there were no significant

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金资助项目(No. 81502032)。Project support by Young Scientist Program of the National Natural Scientific Foundation of China (No. 81502032)

[作者简介] 张超(1978-),男,河北省衡水市人,硕士,助理研究员,主要从事肿瘤分子生物学方面的研究,E-mail:kyzxc@163.com

[通信作者] 单保恩(SHAN Baoen, corresponding author),E-mail:sbe@hbm.edu

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20160711.1038.014.html>

differences between expressions of E-cadherin and vimentin, and survival rates of the patients ($P > 0.05$). **Conclusion:** Stem cells factor OCT4 might promote metastasis of the invasive breast cancer cells via EMT, and might be a factor affecting prognosis of the invasive breast cancer.

[**Key words**] invasive breast cancer; octamer-binding transcription factor 4(OCT4); epithelial-mesenchymal transition (EMT); lymph node metastasis

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(4): 525-530. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.04.012]

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤,乳腺癌细胞的侵袭转移是危及乳腺癌患者生命的重要因素^[1-2]。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)使乳腺癌细胞失去上皮标志,获得间质表型,表现出极强的侵袭、迁移能力,导致肿瘤转移,并且促使转移肿瘤细胞干细胞化,产生对化疗药物的抵抗^[3-5]。E-钙黏着蛋白(E-cadherin)和波形蛋白(vimentin)分别表达于上皮细胞和间质细胞,是发生 EMT 的标志^[6]。研究表明,八聚体结合转录因子 4(octamer-binding transcription factor 4, OCT4)是诱导干细胞的一个关键转录因子,与维持肿瘤干细胞自我更新能力和分化潜能有关。然而,关于 OCT4 对肿瘤侵袭转移的影响还研究甚少。因此本研究检测 EMT 相关因子 E-钙黏着蛋白和波形蛋白以及干细胞因子 OCT4 在乳腺癌中的表达,探讨 EMT 与乳腺癌干细胞之间的相关性,为乳腺癌的诊断和治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选自河北医科大学第四医院 2009 年手术切除的浸润性乳腺癌组织标本 40 例,均为女性,中位年龄为 50.9 岁(31 ~ 75 岁)。同时另取距癌组织 3 ~ 5

cm 的癌旁组织 18 例。所有患者术前均未经放、化疗。实验中涉及到人乳腺癌组织标本及临床资料的收集均与患者签署知情同意书,全部研究方案和程序报医院伦理委员会审查并获批准。

1.2 主要试剂

兔抗人 OCT4 单克隆抗体,兔抗人 E-钙黏着蛋白单克隆抗体和兔抗人波形蛋白单克隆抗体购自美国 Epitomic 公司,免疫组化二抗试剂盒和 DAB 显色液购自北京中衫金桥生物技术有限公司,反转录试剂盒购自美国 Thermo 公司,Real-time PCR 试剂盒购自美国 Promega 公司。

1.3 Real-time PCR 检测 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白的 mRNA 表达

按 TRIzol 试剂说明书操作,提取总 RNA,并逆转录为 cDNA。以合成的 cDNA 为模板,加入相应目的基因的上下游引物(表 1)和 qPCR 染料后,用实时荧光定量 PCR 仪进行检测(每组设 3 个副孔)。PCR 反应条件:95 °C 5 min,95 °C 15 s,60 °C 34 s,72 °C 25 s,40 个循环后;95 °C 15 s,57 °C 1 min,95 °C 30 s。扩增结束后输出对照组和待测组目的基因及内参基因的 CT 值,计算对照组 mRNA 表达相对水平比率,求 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 。

表 1 实时定量 PCR 引物

Tab. 1 Primers of Real-time quantitative PCR

Gene	Accession Number	Sequence	Size
OCT4	NM_203289.5	Forward 5'-GCAATTTGCCAAGCTCCTGAA-3'	170
		Reverse 5'-AAGCTAAGCTGCAGGCCTCAAAG-3'	
E-cadherin	NM_004360.4	Forward 5'-TGGACAGGGAGGATTTGAG-3'	146
		Reverse 5'-ACCTGAGGCTTTGGATTCCT-3'	
Vimentin	NM_003380.3	Forward: 5'-GAGAACTTTGCCGTTGAAGC-3'	160
		Reverse 5'-CTCAATGTCAAGGGCCATCT-3'	
GAPDH	NM_002046.3	Forward 5'-GTCAACGGATTGTCGTATTG-3'	138
		Reverse 5'-CATGGGTGGAATCATATTGGAA-3'	

1.4 免疫组织化学法检测 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白的表达

石蜡切片常规脱蜡,加一抗 4 °C 过夜。次日滴

加 SP 标记的二抗,37 °C 孵育 1 h, DAB 显色后苏木精复染,并常规脱水、透明和封片。用已知 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白阳性乳腺癌切片染色作阳性

对照,用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

结果判定:以细胞质或细胞核含棕黄色颗粒判断为阳性细胞,并进行阳性细胞染色强度评分:无染色(与背景颜色相似)为 0 分,轻度染色(淡黄色)为 1 分,中度染色(棕黄色)为 2 分,重度染色(棕褐色)为 3 分。阳性细胞率评分:<5% 为 0 分,5%~10% 为 1 分,11%~20% 为 2 分,21%~50% 为 3 分,>50% 为 4 分。将 2 项评分之和作为该患者的总评分,总评分 ≤ 2 分定义为阴性, ≥ 3 分定义为阳性。

1.5 统计学处理

用 SPSS13.0 统计软件,采用多元线性回归分析 3 种基因表达之间的相关性,不同组间的临床病理特征比较采用卡方检验,用 Spearman 相关分析进行 3 种蛋白表达之间的相关性分析。生存率采用 Kaplan-Meier 生存分析法。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌组织中 OCT4 及 EMT 相关因子 E-钙黏着蛋白、波形蛋白 mRNA 的表达水平及其相互关系

Real-time PCR 检测结果(表 2)显示,*OCT4* 和波形蛋白在浸润性乳腺癌中的 mRNA 表达水平显著高于癌旁组织($P < 0.05$),E-钙黏着蛋白 mRNA 在浸润性乳腺癌中的表达显著低于癌旁组织($P < 0.05$)。干细胞因子 *OCT4* mRNA 表达与上皮标志物 E-钙黏着蛋白 mRNA 表达呈负相关,与间质标志物波形蛋白 mRNA 表达呈正相

关。而 E-钙黏着蛋白 mRNA 表达与波形蛋白 mRNA 表达呈负相关(图 1)。

2.2 浸润性乳腺癌 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白的表达及其与临床病理特征间的关系

免疫组织化学法检测结果(图 2)显示,*OCT4* 主要位于浸润性乳腺癌组织的细胞核,阳性率为 30% (12/40),在癌旁组织中未见表达(0/18);E-钙黏着蛋白主要位于细胞膜,阳性率为 55% (22/40),在癌旁组织的阳性率为 88.9% (16/18);波形蛋白主要位于细胞质,阳性率为 65% (26/40),在癌旁组织的阳性率为 16.7% (3/18)。*OCT4* 表达与浸润性乳腺癌患者的年龄、组织学分级、淋巴结转移和 Her-2 表达有关,E-钙黏着蛋白表达与淋巴结转移有关,波形蛋白表达与组织学分级、淋巴结转移有关,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$,表 3)。

2.3 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白在浸润性乳腺癌中表达具有相关性

Spearman 相关性分析显示(表 4),40 例浸润性乳腺癌组织中 *OCT4* 蛋白表达水平与 E-钙黏着蛋白表达呈负相关,与波形蛋白表达呈正相关,而 E-钙黏着蛋白表达与波形蛋白表达也呈负相关。

2.4 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白在转移性乳腺癌及未转移乳腺癌中表达的差异

OCT4 蛋白表达在转移性乳腺癌与未转移乳腺癌之间差异具有统计学意义($P < 0.05$),而 E-钙黏着蛋白和波形蛋白表达在转移性乳腺癌与未转移乳腺癌之间差异无统计学意义($P > 0.05$) (表 5)。

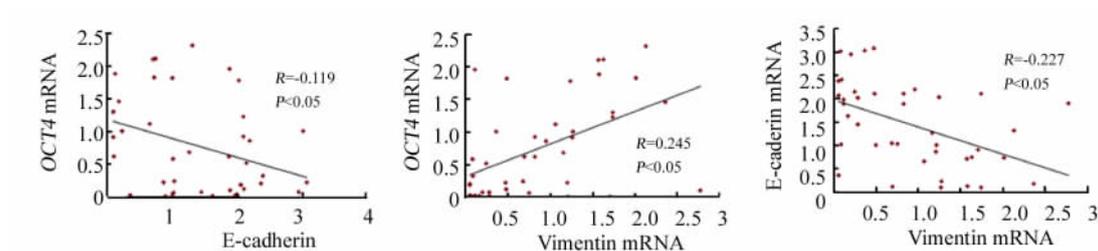


图 1 乳腺癌组织中 *OCT4* 与 E-钙黏着蛋白和波形蛋白 mRNA 表达水平的相关性

Fig. 1 Correlation of *OCT4* mRNA expression with expressions of *E-cadherin* and *vimentin* mRNA in the invasive breast cancer tissues

A: Expressions of *OCT4* and *E-cadherin* mRNA; B: Expressions of *OCT4* and *vimentin* mRNA;

C: Expressions of *E-cadherin* and *vimentin* mRNA

2.5 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白表达与浸润性乳腺癌患者生存率的关系

40 例浸润性乳腺癌患者中失访 5 例,死亡 5 例,尚存 30 例进行随访,其中远处转移 6 例,默认失访的患者为尚存患者。Kaplan-Meier 生存分析结果

(图 3)显示,乳腺癌组织 *OCT4* 蛋白表达阳性患者的生存率明显低于 *OCT4* 蛋白表达阴性患者($P < 0.05$)。而 E-钙黏着蛋白和波形蛋白表达与患者生存率之间无明显关系($P > 0.05$)。

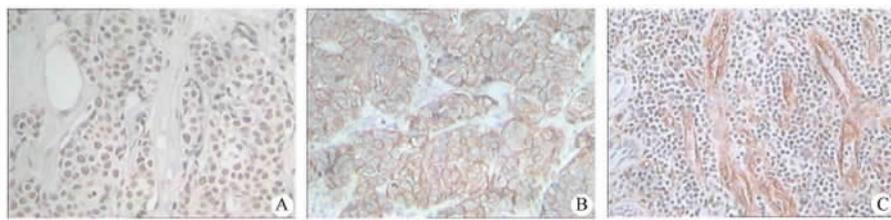


图2 浸润性乳腺癌组织中 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白的表达(× 400)

Fig. 2 Expressions of OCT4, E-cadherin and vimentin proteins in the invasive breast cancer tissues (× 400)

A: OCT4; B: E-cadherin; C: Vimentin

表2 乳腺癌及癌旁组织中 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白 mRNA 的表达

Tab. 2 Expressions of OCT4, E-cadherin, and vimentin mRNA in breast carcinoma and para-carcinoma tissues

Group	n	OCT4 mRNA		E-cadherin mRNA		Vimentin RNA	
		- $\Delta\Delta CT$	2 ^{-$\Delta\Delta CT$}	- $\Delta\Delta CT$	2 ^{-$\Delta\Delta CT$}	- $\Delta\Delta CT$	2 ^{-$\Delta\Delta CT$}
Breast carcinoma	40	2.64 ± 0.89	6.13(2.85-21.94)	0.60 ± 0.62	1(0.53-2.91)	3.30 ± 1.55	19.26(1.74-41.61)
Para-carcinoma	18	0.15 ± 0.09	1(0.16-1.87)	3.07 ± 1.41	12.26(1.72-35.62)	1.09 ± 0.96	1(0.81-3.60)

表3 浸润性乳腺癌组织 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白表达与临床病理特征的关系

Tab. 3 Relationships of expressions of OCT-4, E-cadherin and vimentin proteins in the invasive breast carcinoma with clinicopathological characteristics

Characteristics	OCT4			E-cadherin			vimentin		
	-	+	P	-	+	P	-	+	P
Age (t/a)									
≤50	11	10	0.016	9	12	0.775	8	13	0.666
>50	17	2		9	10		6	13	
Tumor size (d/cm)									
≤3	21	8	0.704	13	16	0.972	10	19	1.000
>3	7	4		5	6		4	7	
Menostasis									
Negative	10	8	0.093	7	11	0.537	8	10	0.327
Positive	18	4		11	11		6	16	
Lymph node metastasis									
Negative	21	3	0.005	6	14	0.018	12	12	0.020
Positive	7	9		12	4		2	14	
Histological grade									
I + II	25	3	0.000	13	15	1.000	15	13	0.012
III	3	9		5	7		1	11	
Hypertension									
Negative	16	11	0.063	4	9	0.312	10	17	1.000
Positive	12	1		14	13		4	9	
ER									
Negative	10	3	0.716	7	6	0.509	2	11	0.090
Positive	18	9		11	16		12	15	
PR									
Negative	20	5	0.091	10	15	0.517	9	16	1.000
Positive	8	7		8	7		5	10	
HER-2									
Negative	16	2	0.035	10	8	0.339	4	14	0.186
Positive	12	10		8	14		10	12	

表 4 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白在浸润性乳腺癌中表达的相关性

Tab. 4 Correlation between expressions of OCT4, E-cadherin and vimentin proteins in the invasive breast carcinoma

Group	OCT4		E-cadherin		Vimentin		<i>r</i>	<i>P</i>	
	+	-	+	-	+	-			
OCT4	+	12	0	3	9	11	1	OCT4 vs E-cadherin	OCT4 vs E-cadherin
	-	0	28	19	9	15	13	-0.395	0.012
E-cadherin	+	3	19	22	0	10	12	OCT4 vs vimentin	OCT4 vs vimentin
	-	9	9	0	18	16	2	0.366	0.020
Vimentin	+	11	15	10	16	26	0	vimentin vs E-cadherin	vimentin vs E-cadherin
	-	1	13	12	2	0	14	-0.453	0.003

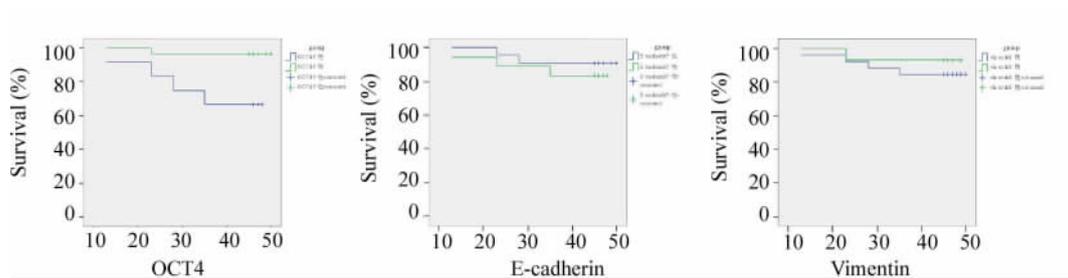


图 3 OCT4、E-钙黏着蛋白和波形蛋白表达与浸润性乳腺癌患者生存率

Fig. 3 Survival rates of the patients with invasive breast cancer and expressions of OCT4, E-cadherin and vimentin proteins

表 5 转移性乳腺癌及未转移乳腺癌中表达 OCT4、E-钙黏着蛋白或波形蛋白的患者数(*n*)Tab. 5 Number of the patients expressed OCT4, E-cadherin or vimentin protein with metastasis or non-metastasis breast cancer (*n*)

Group	<i>N</i>	OCT4			E-cadherin			vimentin		
		+	-	<i>P</i>	+	-	<i>P</i>	+	-	<i>P</i>
Metastasis	6	5	1	0.006	2	4	0.381	4	2	1.000
Non-metastasis	34	7	1	27	0	20	14	0	22	12

3 讨论

OCT4 对维持干细胞特性和调节干细胞分化起至关重要的作用。近年来,有研究报道 OCT4 是诱导干细胞的一个关键转录因子,它与性别决定区 Y 框蛋白 2(sex determining region Y-box 2, SOX2)、Kruppel 样因子 4(Kruppel-like factor 4, KLF4)和骨髓细胞瘤病毒癌基因同源物(myelocytomatosis viral oncogene homolog, MYC)共同诱导鼠和人成体细胞成为多潜能性干细胞(induced pluripotent stem cell, iPS),说明 OCT4 具有干细胞调控特性^[7-8]。本研究检测 OCT4 基因在浸润性乳腺癌组织中的表达水平,结果显示 OCT4 的表达与患者年龄、淋巴结转移、组织学分级以及 HER-2 表达有关,且 OCT4 表达阳性患者的生存率明显低于 OCT4 表达阴性患者,

这些结果说明,含有更多干细胞因子的乳腺癌患者更容易发生淋巴结转移,预后更差。

EMT 的主要特征是丧失上皮细胞表型和具有间质细胞形态,有极强的迁移和侵袭能力,可导致肿瘤转移,并促使转移的肿瘤细胞干细胞化^[9]。E-钙黏着蛋白和波形蛋白分别在上皮细胞和间质细胞表达,E-钙黏着蛋白表达下调、波形蛋白表达上调是发生 EMT 的标志。最近研究^[10]发现,大约 70% 的原发性乳腺癌 E-钙黏着蛋白表达水平降低甚至缺失,导致细胞之间的粘附能力下降,促使 EMT 发生,引起肿瘤转移^[13]。本研究结果显示,浸润性乳腺癌组织 OCT4 mRNA 表达与 E-钙黏着蛋白 mRNA 表达水平呈负相关,与波形蛋白 mRNA 表达呈正相关,而且 E-钙黏着蛋白 mRNA 与波形蛋白 mRNA 表达也呈负相关。这些结果表明,干细胞因子 OCT4 表

达与 EMT 发生密切相关。免疫组织化学试验结果显示, E-钙黏着蛋白表达与浸润性乳腺癌患者淋巴结转移有关, 波形蛋白表达与组织学分级、淋巴结转移有关, OCT4 与 E-钙黏着蛋白的表达呈负相关, 与波形蛋白的表达呈正相关, 而且 E-钙黏着蛋白与波形蛋白的表达也呈负相关, 与基因表达水平结果一致。这些结果提示, EMT 可能与浸润性乳腺癌的不良预后存在相关性, 可能参与了浸润性乳腺癌的发生、浸润以及转移。

研究^[11-14]发现, 在 EMT 发生过程中可以产生具有干细胞特性的 EMT 表型细胞, 如自我更新能力和药物抵抗能力。另有学者在结直肠癌研究^[18]中发现, 从癌组织中分离出肿瘤干细胞高表达的 CD44 和 CD166, 这些肿瘤干细胞对放化疗具有抵抗作用和较强的致瘤能力, 可使 SNAIL 表达增加, 并可激活 EMT 发生^[15]。但究竟是肿瘤干细胞引起 EMT 发生肿瘤浸润扩散, 还是 EMT 的发生导致干细胞表型增加, 尚没有定论。于丁等^[16]通过动物实验发现, 浸润性乳腺癌干细胞通过上调 EMT 相关因子 twist 的表达, 促进肿瘤转移。本研究结果显示, 干细胞因子 OCT4 表达与上皮标志物 E-钙黏着蛋白表达呈负相关, 与波形蛋白表达呈正相关, 提示 EMT 可能促进浸润性乳腺癌干细胞表型增加, 而干细胞表型的增加又是浸润性乳腺癌发生耐药和转移的关键因素。

[参考文献]

- [1] RHODES L V, TATE C R, HOANG V T, et al. Regulation of triple-negative breast cancer cell metastasis by the tumor-suppressor liver kinase B1 [J/OL]. *Oncogenesis*, 2015, 4: e168 [2015-11-05]. <http://www.nature.com/onsis/journal/v4/n10/full/onsis201527a.html>. DOI: 10.1038/onsis.2015.27.
- [2] YING X, SUN Y, HE P. Bone morphogenetic protein-7 inhibits EMT-associated genes in breast cancer [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(4): 1271-1278. DOI: 10.1159/000430249.
- [3] KONDAVEETI Y, GUTTILLA REED I K, WHITE B A. Epithelial-mesenchymal transition induces similar metabolic alterations in two independent breast cancer cell lines [J]. *Cancer Lett*, 2015, 364(1): 44-58. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.04.025.
- [4] SOUNDARARAJAN R, PARANJPE A N, BARSAN V, et al. A novel embryonic plasticity gene signature that predicts metastatic competence and clinical outcome [J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11766 [2015-11-05]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4485318>. DOI: 10.1038/srep11766.
- [5] CHARPENTIER M, MARTIN S. Interplay of stem cell characteristics, EMT, and microtentacles in circulating breast tumor cells [J]. *Cancers (Basel)*, 2013, 5(4): 1545-1565. DOI: 10.3390/cancers5041545.
- [6] SINGHAI R, PATIL V W, JAISWAL S R, et al. E-cadherin as a diagnostic biomarker in breast cancer [J]. *N Am J Med Sci*, 2011, 3(5): 227-233. DOI: 10.4297/najms.2011.3227.
- [7] WANG Y J, HERLYN M. The emerging roles of Oct4 in tumor-initiating cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 309(11): C709-C718. DOI: 10.1152/ajpcell.00212.2015.
- [8] LI S W, WU X L, DONG C L, et al. The differential expression of OCT4 isoforms in cervical carcinoma [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0118033 [2015-11-05]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0118033>. DOI: 10.1371/journal.pone.0118033.
- [9] MEGO M, GAO H, LEE B N, et al. Prognostic value of EMT-circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients undergoing high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation [J/OL]. *J Cancer*, 2012, 3: 369-380 [2015-11-05]. <http://www.jcancer.org/v03p0369.htm>. DOI: 10.7150/jca.5111.
- [10] COHEN E N, GAO H, ANFOSSI S, et al. Inflammation mediated metastasis: immune induced epithelial-to-mesenchymal transition in inflammatory breast cancer cells [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132710 [2015-11-05]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0132710>. DOI: 10.1371/journal.pone.0132710.
- [11] TAKAHASHI K, YAMANAKA S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663-676. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
- [12] SAITO K, FUKUDA N, SHINOHARA K, et al. Modulation of the EMT/MET process by pyrrole-imidazole polyamide targeting human transforming growth factor- β 1 [J/OL]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 66: 112-120 [2015-11-05]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135727251500196X>. DOI: 10.1016/j.biocel.2015.07.011.
- [13] WU K J, YANG M H. Epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness: the Twist1-Bmi1 connection [J]. *Biosci Rep*, 2011, 31(6): 449-455. DOI: 10.1042/BSR20100114.
- [14] CREIGHTON C J, CHANG J C, ROSEN J M. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) in tumor-initiating cells and its clinical implications in breast cancer [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2010, 15(2): 253-260. DOI: 10.1007/s10911-010-9173-1.
- [15] HWANG W L, YANG M H, TSAI M L, et al. SNAIL regulates interleukin-8 expression, stem cell-like activity, and tumorigenicity of human colorectal carcinoma cells [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(1): 279-291. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.04.008.
- [16] YU D, ZANG A H, WU H J, et al. Breast cancer stem cell involves distant metastasis through epithelial-mesenchymal transition induced by up-regulating twist expression [J]. *J Chin Oncol*, 2010, 16(9): 710-714.

[收稿日期] 2016-02-25

[修回日期] 2016-05-30

[本文编辑] 宋关鸿