综 述

缺氧诱导因子对肿瘤细胞上皮 - 间质转化的诱导机制

郭晓川，石 燕，陈 丽，施伟伟，韩雅琳，秦 锐，戴广海
解放军总医院 肿瘤内二科，北京 100853

摘要：实体瘤组织内普遍存在低氧现象，缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor，HIF) 是缺氧条件下传递缺氧信号、介导缺氧效应的关键转录因子；上皮 – 间质转化 (epithelial mesenchymal transitions，EMT) 是一个多步骤有序可高度调节的过程，EMT 的发生与多种蛋白分子、微环境及 MicroRNA 等有关，涉及多个信号转导通路和复杂的分子机制，在肿瘤细胞的侵袭和转移过程中扮演重要的角色。研究证实，低氧可通过转化生长因子 – β (transforming growth factor– β，TGF– β) 信号通路、Notch 信号通路、Wnt 信号通路、刺猬信号通路 (hedgehog signaling pathway，Hedgehog)、肝细胞生长因子 / 肝细胞生长因子 (HGF/Met) 信号通路及多种转录因子等途径参与肿瘤 EMT 调控，目前通过抑制 HIF 来达到阻断 EMT 过程的研究日益增多且初见成效，揭示低氧诱导的 EMT 途径可能成为日后肿瘤治疗的新靶点，对于预防和治疗癌症具有重要意义。

关键词：肿瘤；缺氧诱导因子；上皮 – 间质转化
中图分类号：R 730 **文献标志码：**A **文章编号：**2095–5227(2015)01–0090–04 **DOI：**10.3969/j.issn.2095–5227.2015.01.028
网络出版时间：2014–09–05 10:29 **网络出版地址：**http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20140905.1029.005.html

Mechanism of HIF induced epithelial mesenchymal transition

GUO Xiaochuan, SHI Yan, CHEN Li, SHI Weiwei, HAN Yalin, QIN Rui, DAI Guanghai
No.2 Department of Oncology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China
Corresponding author: DAI Guanghai. Email: daigh60@sohu.com

Abstract: Hypoxia is a common phenomenon in solid tumor, and hypoxia inducible factor (HIF) is a key transcription factor in the process of transmitting and mediating anoxic singals. Epithelial mesenchymal transitions (EMT) is a multi-step, ordered and high-adjusted process, which palys an important role in tumor invasion and involves in various proteins, microenvironment, MicroRNA, signal pathway and molecular mechanism. Studies prove that hypoxia can regulate EMT through signal pathway of TGF- β , Notch, Wnt, Hedgehog and HGF/Met. Studies about blocking EMT through inhibition of HIF are effective, which indicates that HIF-induced EMT may be a new target of tumor therapy, and this means a lot to the prevention and therapy of cancer.
Keyword: neoplasms; hypoxia-inducible factor; epithelial-mesenchymal transition

低氧是许多实体瘤组织内普遍存在的现象。研究证实，缺氧诱导因子1(hypoxia inducible factor 1，HIF1)是缺氧条件下传递缺氧信号、介导缺氧效应的关键转录因子，通过结合缺氧反应元件激活下游众多靶基因从而参与肿瘤侵袭、转移、血管生成、能量代谢以及放化疗抵抗等多个环节[1]。许多研究证明，肿瘤内部低氧环境诱发的HIF–1/2是导致肿瘤浸润、转移及患者死亡的一个重要机制[2]。HIF1 α 是HIF–1的功能亚单位，通过参与多种靶基因的转录调控影响肿瘤细胞的能量代谢、增殖和凋亡，使细胞及组织产生一系列反应以适应缺氧环境，同时促进肿瘤血管形成，也增加肿瘤自身的侵袭性及对放化疗的抵抗性，已成为肿瘤发生、发展及治疗研究的热点。上皮 – 间质转化(epithelial mesenchymal transitions，EMT)在肿瘤细胞的侵袭和转移过程中起到了关键作用，是具有极性的上皮细胞转换成具有活动能力、能够在细胞基质间自由移动的细胞的过程。在EMT过程中，上皮细胞特征性的蛋白表达减少，间质细胞特征性的蛋白表达水平提高[3]。目前，越来越多的证据表明，微环境中氧分水平的变化及HIF介导的低氧信号传导途径是诱发、调节EMT的重要机制，而EMT在低氧环境诱导的肿瘤发生、发展、侵袭、转移过程中起到了关键性作用。本文对肿瘤中HIF依赖的EMT发生的多个信号传导通路及分子机制进行综述。

1 HIF依赖的EMT过程相关信号通路

1.1 转化生长因子 β 信号通路(transforming growth factor– β，TGF– β) 转化生长因子 β 在细胞生长、分化、凋亡、侵袭和各种癌症细胞的EMT过程中起关键作用。TGF– β 诱导的EMT是癌细胞侵袭的重要一步，且TGF– β 是第一个被证明在正常乳腺细胞中可诱发EMT的因子[4]。TGF β 可通过丝/苏氨酸激酶受体(Sma and Mad homologue，SMAD)蛋白和非SMAD蛋白信号通路来诱发EMT[5]。SMAD信号通路：TGF– β 与受体结合后，受体发生自体磷酸化，使丝氨酸/苏氨酸激酶活性激活，特异性识别并磷酸化SMAD2和SMAD3，从而与SMAD4形成异聚体进入细胞核；在核内，SMAD3和SMAD4可结合于特定的SMAD结合元件，协

收稿日期：2014–06–03
基金项目：国家自然科学基金项目 (81372286)
Supported by the National Natural Science Foundation of China(81372286)
作者简介：郭晓川，女，在读博士，医师。研究方向：消化道肿瘤的综合治疗。Email: chuanchuan216@126.com
通信作者：戴广海，男，博士，主任医师，教授，博士生导师。Email: daigh60@sohu.com

同被激活的SNAIL，锌指E-盒结合同源异形盒(zinc-finger E-box binding homeobox 1，ZEB1)及SMAD相互作用蛋白1(Smad interactingprotein 1，SIP1)等转录因子，如SMAD3和SMAD4与SNAIL形成复合物，靶向作用于嵌合抗原受体启动子，调节TGFβ作用的靶基因，从而控制细胞的增殖、分化、凋亡、转移及EMT过程。非SMAD信号通路：TGF-β通过参与MAPK信号通路，调节GTP酶介导的信号转导途径发挥作用，TGFβ作用靶点包括转录因子SNAI1、SNAI2、SIP1及同型半胱氨酸等[6]。另外，Wnt蛋白及β-链蛋白信号通路同时也参与了TGFβ-EMT过程，TGFβ-1还可通过激活血小板衍生因子、环氧化物酶2、PI3K/Akt信号通路来诱发EMT[7-8]。

TGF-β信号通路是EMT发生的经典通路之一，有研究表明，在低氧状态下，肿瘤细胞中TGFβ的表达量明显增高，低氧可通过直接提高SMAD3 mRNA水平影响转化生长因子-β信号通路；相反，TGF-β通过SMAD信号通路特异性减少脯氨酰羟化酶的mRNA及蛋白表达水平，从而间接增强HIF-1α蛋白的稳定性[6,9]。可见，HIF与TGF-β信号通路在不同的调节水平上相互影响。HIF和TGF-β还可共同调节某些基因产物如人结缔组织生长因子的表达来诱发EMT。人结缔组织生长因子，CCN蛋白家族之一，也是转化生长因子-β家族纤维化形成的调节因子，能够调节一系列的生物学行为，如：细胞粘连及转移、细胞外基质产生、血管生成、肿瘤生长及伤口痊愈等[10]。在肾小管上皮细胞中，转化生长因子-β可通过SMAD途径迅速诱导结缔组织生长因子的表达[11]。而有研究表明，将结缔组织生长因子加入人表皮细胞中或过表达时可诱发EMT[12]。

1.2 Notch信号通路　Notch信号通路由Notch受体、Notch配体(DSL蛋白)及细胞内效应器分子(CSL-DNA结合蛋白)3部分组成。此信号通路是相邻细胞之间通讯进而调控细胞发育的重要通路，控制着细胞的增殖、分化及存活。通过相邻细胞的Notch配体与受体相互作用，Notch蛋白经过3次剪切，由胞内段释放入胞质，并进入细胞核与转录因子结合，形成转录激活复合体，从而激活碱性-螺旋-环-螺旋(basichelix-loop-helix，bHLH)转录抑制因子家族的靶基因，发挥作用。在肿瘤的发生、发展过程中，Notch家族成员被激活后不足以诱发EMT过程，必须与其他信号通路协同才能发挥作用。1)可通过诱发转录因子Snail1促进EMT形成：①Notch可通过募集胞质区ICN到转录因子Snail1启动子，直接上调转录因子Snail1的表达；②通过募集HIF-1α到胺氧化酶LOX启动子上，促进LOX的过表达，从而稳定Snail蛋白，诱发EMT；2)参与TGF-β1/SMAD诱发的EMT过程；3)TGF-β可通过SMAD3上调Notch受体的配体、HCY1的表达，抑制E-钙黏附素的表达；4)Wnt1转化细胞可提高Notch配体的表达[13-16]。另外Notch还可通过成纤维细胞生长因子、血小板衍生因子等信号通路参与EMT过程[17]。

HIF可从不同的水平参与调控Notch信号通路依赖的EMT过程。肿瘤低氧微环境中，HIF-1α与Notch信号通路细胞内结构域功能性结合，增强转录活性，提高转录因子Snai1表达水平，从而引发EMT[18]。有研究表明，在黑色素瘤细胞中，HIF-1可通过提高Notch1mRNA的水平来增强Notch信号通路的信号传递[19]。

1.3 Wnt信号通路　Wnt/β-链蛋白是经典的Wnt信号传导途径[20]。当Wnt配体与受体卷曲蛋白(Frizzleds，Frz)结合时，Frz可作用于蓬乱蛋白(dishevelled，Dsh)，Dsh能阻断β-链蛋白的降解，从而β-链蛋白在细胞质中积累并进入细胞核，与T细胞因子(TCF/LEF)相互作用，调节靶基因的表达。β-链蛋白与E-钙黏附素胞内区域相互作用来维持细胞间的黏附作用，并进入细胞核启动经典的Wnt信号通路促进肿瘤细胞的生存及增殖[21]。研究发现，细胞内轴蛋白抑制蛋白2表达增加及糖原合成激酶3β、功能阻断可诱发EMT过程[22]。有研究报道，在人原发性肝癌组织中发现异常激活的β-链蛋白及其过度表达的靶基因；大量证据表明，Wnt/β-链蛋白信号通路可通过参与EMT过程促进肝癌的发生及发展[23-24]。另外，Wnt蛋白可参与RTK-PI3K-Akt信号通路，Wnt配体激活表皮生长因子受体1信号，继而激活β-钙黏附素，从而诱发EMT，在肿瘤细胞的增殖发生过程中起重要作用[25]。

肿瘤低氧环境中，HIF-1α通过N端区域将β-链蛋白从T细胞因子4移除，结合N-乙酰基转移酶基因hARD1使β-链蛋白失活；虽然HIF-1α可抑制β-链蛋白的转录活性，但低氧环境对β-链蛋白诱发的EMT是必要的[26]，HIF-1α在低氧诱导的伴随Wnt3a升高的EMT过程中起关键作用，而β-链蛋白可增强HIF-1α依赖的EMT诱导过程[26-28]。

1.4 肝细胞生长因子/肝细胞生长因子受体信号通路(HGF/Met)　肝细胞生长因子(hepatocyte growthfactor，HGF)是肝细胞生长因子受体(Met)原癌基因跨膜酪氨酸激酶受体的配体，可通过多种方式促进细胞增殖、存活、转移[29]。在过度表达Met的卵巢癌细胞中，HGF可增加细胞的迁移力、趋化力及有丝分裂的发生，加速EMT过程。将卵巢癌腹水中HGF加入到卵巢癌细胞的培养系中，可刺激细胞发生EMT，而HGF的中和抗体可以消除促转移作用[30]。在肝癌细胞中，HGF可通过细胞间黏附拆卸、基底膜降解及改变整合蛋白与基质成分之间的相互作用来增强细胞能动性，可能对EMT起到了直接诱导作用[31]。研究发现，肿瘤细胞低氧区域中，HIF通过直接提高Met mRNA水平及激活Met启动子等途径提高Met酪氨酸激酶受体的表达，从而增强HGF信号通路，而此信号通路可通过诱发EMT促进肿瘤进展[32]。

1.5 刺猬信号通路(hedgehog signaling pathway，Hedgehog)　Hedgehog信号传递受靶细胞膜上两种受体Patched (Ptc)和Smoothened(Smo)的控制，Smo是Hh信号传递所必需的受体，正常情况下，Ptc抑制Smo蛋白活性，但当Ptc和Hh结合以后，解除对Smo的抑制作用，促使锌指蛋白Gli形成大分子复合物，进入核内激活下游靶基因转录[33]。Hedgehog信号通路可通过诱导E-钙黏附素抑制物-Snail1的表达调节EMT过程。有报道称SHH-Gli1信号通路通过介导包括

TGFβ、RAS蛋白、Wnt蛋白、生长因子、PI3K/AKT信号通路、整合素、四跨膜蛋白超家族(TM4SF)和钙结合蛋白A4(S100A4)的一个复杂信号网络促进了胰腺肿瘤细胞的上皮间质转化，且Smo拮抗剂可阻断EMT及远处转移[34-35]。2013年的一项研究发现，胰腺癌细胞系中，低氧可通过低氧诱导因子-1促进SHH的表达，从而激活Hedgehog信号通路，诱导EMT发生，而HIF-1α抑制剂可阻断该信号通路中Gli蛋白的激活，更加说明HIF-1α抑制剂对某些依赖低氧、Hedgehog配体的肿瘤，如胰腺、前列腺癌患者可能获益，为日后肿瘤转移治疗提供了新思路[36]。

2 HIF依赖的EMT过程辅助转录因子

EMT发生过程中，除了上述所列举的重要的信号通路外，同时多种转录因子可诱发并在不同分子水平调节EMT，包括转录因子Snail家族(Snail1、Snail2、Snail3)，调控因子Twist1、Twist2，ZEB家族(ZEB1、ZEB2)及胺氧化酶LOX等[37-38]。这些因子能够识别E-钙黏附素E-box启动子的DNA序列，吸引各种辅因子及组蛋白脱乙酰酶，从而抑制E-钙黏附素的表达[39]。而在转录因子发挥作用的同时，HIF也起到了一定的调节作用。文献报道HIF-1α是这些因子的上游调控因子。另外，研究发现，在鼠乳腺癌模型中，HIF-1α通过促进LOX过表达增强癌细胞浸润、转移，且与雌激素受体阴性患者的不良预后密切相关[40]。

众多研究已证实转录因子Snail是EMT的最主要诱导因子之一，在肝癌细胞中诱发EMT起到了重要作用[41]。Snaill是一种含有锌指结构的DNA结合蛋白，可通过同SIP1竞争性结合E-钙黏附素启动子部位的E-box连接基序，抑制E-钙黏附素基因的表达以及波形蛋白表达水平的上升，引起上皮细胞向间质细胞表型的转变，同时伴有E-钙黏附素的下调，从而引发EMT，而此过程与肿瘤低氧环境密切相关。已有研究证明，HIF-1α通过上调Snail减少E-钙黏附素表达[42]。之前的研究发现在EMT过程中，缺氧能诱发Snail表达[43]。Luo等[44]的研究发现，在鼠模型中，HIF可直接调节Snail的表达。在原发肿瘤低氧微环境中，脯氨酸羟化酶所需的氧分缺失，HIF-1α从而逃脱了蛋白水解作用，进入细胞核，与HIF-1β聚和形成转录激活复合物，结合Snail1启动子的配合体从而促进Snail1表达。当肿瘤细胞重新获得氧分，突破细胞外基质，进入靶器官或组织实质后，脯氨酸羟化酶迅速将脯氨酸残基的HIF-1α氧化，这个羟基化过程促使肿瘤抑制蛋白与HIF-1α结合，HIF-1α多泛素化，随即在蛋白酶体中降解，然后间质肿瘤细胞开始发生MET。在缺氧诱导的EMT过程中，HIF-1α起到了最主要的作用，而HIF-1α-Snail-EMT可能是关键的信号通路之一[45]。

Snail、Twist转录因子能够诱导ZEB1因子的表达，TGFβ/Smad信号通路、Wnt信号通路、Notch信号通路及HIF-1α也可直接促进ZEB因子的表达。ZEB家族广泛参与调控肿瘤细胞的细胞周期、细胞凋亡、侵袭转移以及新生血管生成等多个过程，并且也是诱导EMT过程的重要转录因子。ZEB1能够与上皮标记物E-钙黏附素编码基因的启动子上E2盒结合，抑制E-钙黏附素的转录，诱导肿瘤细胞发生EMT，增强细胞的侵袭、转移能力[46]。调控因子Twist家族是胚胎发育中一类高度保守的碱性螺旋-环-螺旋(bHLH)转录因子，研究发现，Twist1-E12二聚体可募集核小体重塑和去乙酰化酶蛋白复合物到上皮-钙黏连素的启动子上，共同抑制E-钙黏附素的表达[47]。

3 结语

EMT是胚胎发育过程中必需的生理机制，同时在上皮性肿瘤的演进中发挥了关键的作用。对于EMT的发生机制及其调节因素，在肿瘤生长、逃逸、转移中的作用，我们需要进一步的探讨。本文对HIF参与的EMT多种诱导途径进行了阐述分析，揭示了HIF在EMT发生、发展过程中扮演了重要的角色，但HIF-EMT的机制研究尚未完善。目前，关于HIF抑制剂的研究逐渐兴起且初显成效。如2014年的一项研究显示，在卵巢癌及前列腺癌细胞系中，PI3K/mTOR抑制剂NVP-BEZ235可干扰HIF-1α的转录及表达过程，抑制Smad2/3、Akt/糖原合成酶激酶-3磷酸化，减少转录因子SNAIL表达，解除E-钙黏附素的抑制作用或直接提高E-钙黏附素mRNA水平，从而抑制甚至逆转EMT过程；显然，通过抑制HIF阻断EMT分子生物学机制的发生，从而抑制肿瘤细胞的恶性进展，为寻找治疗肿瘤转移的方法提供了新的思路[48]。但目前关于HIF-EMT抑制剂的研究尚处于临床试验阶段，期待日后能广泛应用于临床实践。

参考文献

1 Cao S, Yang S, Wu C, et al. Protein expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha and hepatocellular carcinoma : A systematic review with meta-analysis [J/OL]. http : //www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210740114000977

2 Sendoel A, Kohler I, Fellmann C, et al. HIF-1 antagonizes p53-mediated apoptosis through a secreted neuronal tyrosinase [J]. Nature, 2010, 465 (7298): U69-U577.

3 Peinado H, Olmeda D, Cano A. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression : an alliance against the epithelial phenotype?[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7 (6): 415-428.

4 Miettinen PJ, Ebner R, Lopez AR, et al. TGF-beta induced transdifferentiation of mammary epithelial cells to mesenchymal cells : involvement of type I receptors [J]. J Cell Biol, 1994, 127 (6 Pt 2): 2021-2036.

5 Acloque H, Adams MS, Fishwick K, et al. Epithelial-mesenchymal transitions : the importance of changing cell state in development and disease [J]. J Clin Invest, 2009, 119 (6): 1438-1449.

6 Zavadil J, Böttinger EP. TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions [J]. Oncogene, 2005, 24 (37): 5764-5774.

7 Kim K, Lu ZF, Hay ED. Direct evidence for a. role of beta-catenin/LEF-1 signaling pathway in induction of EMT [J]. Cell Biol Int, 2002, 26 (5): 463-476.

8 Van Zijl F, Mair M, Csiszar A, et al. Hepatic tumor-stroma crosstalk guides epithelial to mesenchymal transition at the tumor edge [J]. Oncogene, 2009, 28 (45): 4022-4033.

9 McMahon S, Charbonneau M, Grandmont S, et al. Transforming growth factor beta1 induces hypoxia-inducible factor-1 stabilization through selective inhibition of PHD2 expression [J]. J Biol Chem, 2006, 281 (34): 24171-24181.

10 Shi-Wen X, Leask A, Abraham D. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2008, 19 (2): 133-

144.
11 Higgins DF，Biju MP，Akai Y，et al. Hypoxic induction of Ctgf is directly mediated by Hif-1［J］. Am J Physiol Renal Physiol，2004，287（6）：F1223-F1232.
12 Zhang C，Meng X，Zhu Z，et al. Connective tissue growth factor regulates the key events in tubular epithelial to myofibroblast transition in vitro［J］. Cell Biol Int，2004，28（12）：863-873.
13 Timmerman LA，Grego-Bessa J，Raya A，et al. Notch promotes epithelial-mesenchymal transition during cardiac development and oncogenic transformation［J］. Genes Dev，2004，18（1）：99-115.
14 Wang Y，Zhou BP. Epithelial-mesenchymal transition in breast cancer progression and metastasis［J］. Chin J Cancer，2011，30（9）：603-611.
15 Zavadil J，Cermak L，Soto-Nieves N，et al. Integration of TGF-beta/Smad and Jagged1/Notch signalling in epithelial-to-mesenchymal transition［J］. EMBO J，2004，23（5）：1155-1165.
16 Garg M. Epithelial-mesenchymal transition-activating transcription factors - multifunctional regulators in cancer［J］. World J Stem Cells，2013，5（4）：188-195.
17 Wang Z，Li Y，Kong D，et al. The role of Notch signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition（EMT）during development and tumor aggressiveness［J］. Curr Drug Targets，2010，11（6）：745-751.
18 Sahlgren C，Gustafsson MV，Jin S，et al. Notch signaling mediates hypoxia-induced tumor cell migration and invasion［J］. Proc Natl Acad Sci U S A，2008，105（17）：6392-6397.
19 Bedogni B，Warneke JA，Nickoloff BJ，et al. Notch1 is an effector of Akt and hypoxia in melanoma development［J］. J Clin Invest，2008，118（11）：3660-3670.
20 申玉超，于晓玲，张秀梅. 阿托伐他汀对氯化锂诱导人脐静脉内皮细胞 Wnt 信号通路相关因子表达的影响［J］. 解放军医学院学报，2013（3）：276-278.
21 Macdonald BT，Tamai K，He X. Wnt/beta-catenin signaling：components，mechanisms，and diseases［J］. Dev Cell，2009，17（1）：9-26.
22 Gordon MD，Nusse R. Wnt signaling：multiple pathways，multiple receptors，and multiple transcription factors［J］. J Biol Chem，2006，281（32）：22429-22433.
23 Fatima S，Lee NP，Luk JM. Dickkopfs and Wnt/β-catenin signalling in liver cancer［J］. World J Clin Oncol，2011，2（8）：311-325.
24 Hu T，Li C. Convergence between Wnt-β-catenin and EGFR signaling in cancer［J］. Mol Cancer，2010，9：236.
25 Trevisani F，Cantarini MC，Wands JR，et al. Recent advances in the natural history of hepatocellular carcinoma［J］. Carcinogenesis，2008，29（7）：1299-1305.
26 Kaidi A，Williams AC，Paraskeva C. Interaction between beta-catenin and HIF-1 promotes cellular adaptation to hypoxia［J］. Nat Cell Biol，2007，9（2）：210-217.
27 Lim JH，Chun YS，Park JW. Hypoxia-inducible factor-1 alpha obstructs a Wnt signaling pathway by inhibiting the hARD1-mediated activation of beta-catenin［J］. Cancer Res，2008，68（13）：5177-5184.
28 Zhang Q，Bai X，Chen W，et al. Wnt/β-catenin signaling enhances hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma via crosstalk with hif-1α signaling［J］. Carcinogenesis，2013，34（5）：962-973.
29 Whittaker S，Marais R，Zhu AX. The role of signaling pathways in the development and treatment of hepatocellular carcinoma［J］. Oncogene，2010，29（36）：4989-5005.
30 Ueoka Y，Kato K，Kuriaki Y，et al. Hepatocyte growth factor modulates motility and invasiveness of ovarian carcinomas via Ras-mediated pathway［J］. Br J Cancer，2000，82（4）：891-899.
31 Ding W，You HN，Dang H，et al. Epithelial-to-Mesenchymal transition of murine liver tumor cells promotes invasion［J］. Hepatology，2010，52（3）：945-953.
32 Samulitis BK，Landowski TH，Dorr RT. Inhibition of protein synthesis by imexon reduces HIF-1 alpha expression in normoxic and hypoxic pancreatic cancer cells［J］. Invest New Drugs，2009，27（1）：89-98.
33 杨铎，臧东钰，李晓明. Shh 蛋白及其下游转录因子 Gli-1 在非小细胞肺癌中的表达及意义［J］. 解放军医学院学报，2013，34（11）：1182-1184.
34 Feldmann G，Dhara S，Fendrich V，et al. Blockade of hedgehog signaling inhibits pancreatic cancer invasion and metastases：a new paradigm for combination therapy in solid cancers［J］. Cancer Res，2007，67（5）：2187-2196.
35 Varnat F，Duquet A，Malerba M，et al. Human colon cancer epithelial cells harbour active HEDGEHOG-GLI signalling that is essential for tumour growth，recurrence，metastasis and stem cell survival and expansion［J］. EMBO Mol Med，2009，1（6/7）：338-351.
36 Spivak-Kroizman TR，Hostetter G，Posner RA，et al. Hypoxia triggers Hedgehog-Mediated Tumor-Stromal interactions in pancreatic cancer［J］. Cancer Res，2013，73（11）：3235-3247.
37 Pardali K，Moustakas A. Actions of TGF-beta as tumor suppressor and pro-metastatic factor in human cancer［J］. Biochim Biophys Acta，2007，1775（1）：21-62.
38 Muqbil I，Wu J，Aboukameel A，et al. Snail nuclear transport：The gateways regulating epithelial-to-mesenchymal transition?［J］. Semin Cancer Biol，2014，27C（期缺失）：39-45.
39 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.
40 Wu Y，Mao F，Zuo X，et al. 15-LOX-1 suppression of hypoxia-induced metastatic phenotype and HIF-1α expression in human colon cancer cells［J］. Cancer Med，2014，3（3）：472-484.
41 Yang MH，Chen CL，Chau GY，et al. Comprehensive analysis of the Independent effect of twist and snail in promoting metastasis of hepatocellular carcinoma［J］. Hepatology，2009，50（5）：1464-1474.
42 Evans AJ，Russell RC，Roche O，et al. VHL promotes E2 box-dependent E-cadherin transcription by HIF-mediated regulation of SIP1 and snail［J］. Mol Cell Biol，2007，27（1）：157-169.
43 Copple BL. Hypoxia stimulates hepatocyte epithelial to mesenchymal transition by hypoxia-inducible factor and transforming growth factor-beta-dependent mechanisms［J］. Liver Int，2010，30（5）：669-682.
44 Luo D，Wang J，Li J，et al. Mouse snail is a target gene for HIF［J］. Mol Cancer Res，2011，9（2）：234-245.
45 Zhang L，Huang G，Li X，et al. Hypoxia induces epithelial-mesenchymal transition via activation of SNAI1 by hypoxia-inducible factor-1α in hepatocellular carcinoma［J］. BMC Cancer，2013，13：108.
46 Fu JJ，Qin L，He T，et al. The TWIST/mi2/NuRD protein complex and its essential role in cancer metastasis［J］. Cell Res，2011，21（2）：275-289.
47 Vandewalle C，Van Roy F，Berx G. The role of the ZEB family of transcription factors in development and disease［J］. Cell Mol Life Sci，2009，66（5）：773-787.
48 Lin G，Gai R，Chen Z，et al. The dual PI3K/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 prevents epithelial-mesenchymal transition induced by hypoxia and TGF-β1［J］. Eur J Pharmacol，2014，729：45-53.