

Received: 2012.03.05  
Accepted: 2012.06.30  
Published: 2012.09.07

## Rola szlaków sygnalizacyjnych związanych z TGF- $\beta$ w patogenezie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) jako głównego elementu warunkującego progresję choroby nowotworowej\*

The role of TGF- $\beta$ -related signal transduction pathways in pathogenesis of epithelial-mesenchymal transition as a key element in cancer development and progression

Małgorzata Pieniążek<sup>1</sup>, Piotr Donizy<sup>2</sup>, Marcin Ziętek<sup>3</sup>,  
Bartłomiej Szynglarewicz<sup>3</sup>, Rafał Matkowski<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Katedra Onkologii, Zakład Chirurgii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

<sup>2</sup> Zakład Patomorfologii i Cytologii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

<sup>3</sup> Dolnośląskie Centrum Onkologii we Wrocławiu

### Streszczenie

Przejście nabłonkowo-mezenchymalne (epithelial-mesenchymal transition – EMT) jest biologicznym procesem, polegającym na przekształceniu się nieruchomych i spolaryzowanych komórek o fenotypie nabłonkowym w komórki o fenotypie mezenchymalnym. Charakterystycznymi cechami EMT są: apolarność, utrata adhezji komórkowej, zmniejszona ekspresja E-kadheryny oraz zwiększona zdolność do ruchu i inwazji. EMT jest fizjologicznym procesem niezbędnym do prawidłowego rozwoju embrionalnego, jego aktywacja występuje także w niektórych stanach patologicznych. W przypadku niewłaściwej aktywacji przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego dochodzi do powstania nieprawidłowości morfologiczno-funkcjonalnych, jakimi są włóknienie tkanek, inwazja oraz przerzutowanie komórek raka. Zachodzące w obydwu sytuacjach podstawowe mechanizmy molekularne są do siebie podobne, ale prowadzą do różnorodnych efektów w zależności od typu komórek i warunków środowiska biologicznego.

Jedną z najlepiej poznanych ścieżek sygnalizacyjnych w procesie EMT jest ta, w której uczestniczy transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- $\beta$ ). TGF- $\beta$  jest wielofunkcyjną cytokiną, która kontroluje proliferację, różnicowanie i inne funkcje w wielu typach komórek. Stwierdzono, że transformacja nowotworowa modyfikuje funkcję TGF- $\beta$  z supresora wzrostu guza w onkogeną cytokinę. TGF- $\beta$  jest jednym z głównych regulatorów przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego.

### Słowa kluczowe:

przejście nabłonkowo-mezenchymalne • TGF- $\beta$  • E-kadheryna • karcynogeneza

### Summary

Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a biological process that drives polarized, imotile epithelial cells to undergo multiple biochemical changes to acquire a mesenchymal cell phenotype.

\* Praca powstała w ramach grantu Pbm108 Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

The characteristic features of EMT are cell apolarity, loss of cellular adhesion, reduced expression of E-cadherin and increased migratory capacity, as well as invasiveness. EMT is a physiological process that is essential for normal embryonic development. Additionally, abnormal activation of EMT contributes to some human pathologies such as tissue fibrosis, cancer cell invasion and metastasis. In both situations, the basic molecular mechanisms are similar, but lead to different effects depending on cell type and biological conditions of the environment.

TGF- $\beta$  is a multifunctional cytokine that controls proliferation, differentiation and other functions in many cell types. It has been found that neoplastic development converts TGF- $\beta$  into an oncogenic cytokine. It activates various molecular processes, which are engaged in EMT initiation. All that makes TGF- $\beta$  a key regulator of EMT.

**Key words:** epithelial-mesenchymal transition • TGF- $\beta$  • E-cadherin • carcinogenesis

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1009653>

**Word count:** 2772

**Tables:** –

**Figures:** 1

**References:** 110

**Adres autorki:** lek. Małgorzata Pieniążek, Katedra Onkologii, Zakład Chirurgii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, pl. Hirszfelda 12, 53-413 Wrocław; e-mail: pieniazdgosia@interia.pl

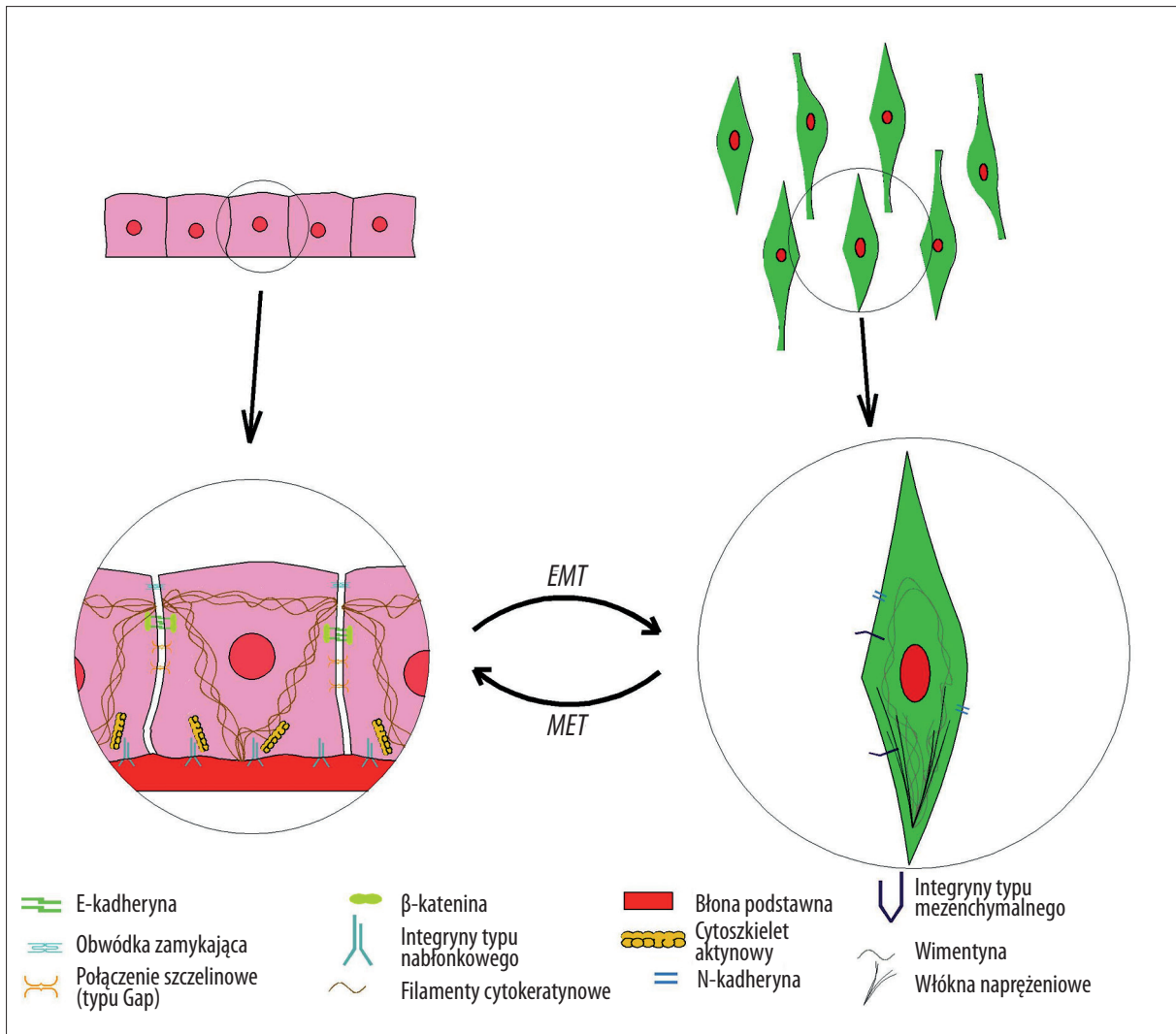
**Wykaz skrótów:**  $\alpha$ -**SMA** – aktywna mięśni gładkich alfa (smooth muscle actin); **bHLH** – białko bLHL (basic helix-loop-helix); **ECM** – macierz zewnątrzkomórkowa (extracellular matrix); **EGF** – naskórkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor); **EMT** – przejście nabłonkowo-mezenchymalne (epithelial-mesenchymal transition); **ERK** – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowym sygnałem (extracellular signal-regulated kinase); **FAK** – kinaza ognisk przylegania (focal adhesion kinase); **FGF** – czynnik wzrostu fibroblastów (fibroblast growth factor); **GSK-3** – kinaza syntazy glikogenu 3 (glycogen synthase kinase 3); **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor); **ILK** – kinazy związane z integrzynami (integrin-linked kinases); **JNK** – kinaza N-końca białka c-Jun (c-Jun N-terminal kinase); **MAPK** – kinazy aktywowane mitogenami (mitogen-activated protein kinases); **MDCK** – nerka Madin-Darby (Madin-Darby canine kidney); **MET** – przejście mezenchymalno-nabłonkowe (mesenchymal-epithelial transition); **MMPs** – metaloproteinazy (metalloproteinases); **mTOR** – kinaza serynowo-treoninowa mTOR (mammalian target of rapamycin); **NF- $\kappa$ B** – jądrowy czynnik  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B); **PAI** – inhibitor aktywatora plazminogenu (plasminogen activator inhibitor); **PDGF** – płytkowy czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor); **PI3K** – kinaza fosfatydilinozitolowa (phosphoinositide-3-kinase); **TGF- $\beta$**  – transformujący czynnik wzrostu beta (transforming growth factor); **T $\beta$ R-I** – receptor TGF- $\beta$  typu I (TGF- $\beta$  type I receptor); **T $\beta$ R-II** – receptor TGF- $\beta$  typu II (TGF- $\beta$  type II receptor); **T $\beta$ R-III** – receptor TGF- $\beta$  typu III (TGF- $\beta$  type III receptor); **uPA** – aktywator plazminogenu typu urokinazy (urokinase plasminogen activator); **ZO** – obwódka zamykająca (zonula occludens).

## WSTĘP

Obecność komórek nabłonkowych i mezenchymalnych jest fundamentalną cechą prawidłowego dalszego rozwoju embrionalnego i organogenezy. Zaobserwowano, że komórka nabłonkowa może w pewnych warunkach ulegać konwersji i prezentować fenotyp komórki mezenchymalnej naberając charakterystycznych dla niej cech strukturalnych i funkcjonalnych, co nazwano epithelial-mesenchymal transition (EMT), czyli przejściem nabłonkowo-mezenchymalnym [32]. Niedługo później wywołano ten proces eksperymentalnie, przekształcając komórki nabłonkowe linii MDCK (Madin-Darby canine kidney) w zdolne do migracji fibroblasty poprzez ich inkubację w obecności

czynnika zdefiniowanego następnie jako HGF (hepatocyte growth factor), czyli czynnik wzrostu hepatocytów [6,32]. EMT, a także proces odwrotny czyli konwersja fenotypu mezenchymalnego w nabłonkowy (mesenchymal-epithelial transition – MET) zachodzą na wielu etapach prawidłowego rozwoju embrionalnego, biorąc udział m.in. w nefrogeniezie, powstawaniu mięśni, formowaniu podniebienia, powstawaniu zastawek serca, tworzeniu elementów obwodowego układu nerwowego, formowaniu przewodu pokarmowego i w rozwoju gruczołu sutkowego [16].

EMT jest dobrze skoordynowanym procesem złożonym z ciągu swoistych etapów i ściśle zdefiniowanych zdarzeń prowadzących do nabrania przez komórkę nabłonkową cech



Ryc. 1. Szescienne komórki o fenotypie nabłonkowym są nieruchome, ściśle przylegają do siebie oraz do błony podstawnej. W wyniku przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) komórki stają się wrzecionowate, przebudowie ulega cytoszkielet oraz zmienia się ekspresja białek powierzchniowych. Gdy transformowane komórki dotrą do docelowej tkanki lub narządu, przechodzą odwrotny do EMT proces – przejście mezenchymalno-nabłonkowe (MET)

strukturalnych i właściwości komórki mezenchymalnej [85]. Proces ten zaczyna się od dezintegracji połączeń ścisłych obwódki zamykającej i wymieszania szczytowych i podstawno-bocznych elementów błony komórkowej, co prowadzi do utraty polaryzacji komórki [92]. Następnie rozłączone zostają połączenia obwódki zwierającej i połączenia komunikacyjne, błona podstawna ulega stopniowej degradacji, a białka powierzchniowe, takie jak E-kadheryna i integryny biorące udział w wiązaniach komórki odpowiednio z sąsiednimi komórkami nabłonka i z błoną podstawną, są zastępowane przez charakterystyczne dla komórki mezenchymalnej N-kadherynę i integryny o mniej stabilnych właściwościach [76]. Dodatkowo przebudowie i reorganizacji ulegają elementy cytoszkieletu, filamety cytoke-ratynowe zostają zastąpione przez wimentynę, a kształt komórki zmienia się na wrzecionowaty. W rezultacie komórka zostaje pozbawiona łączności z innymi komórkami, zwiększa się jej mobilność, nabywa zdolności penetracji błony podstawnej i macierzy zewnątrzkomórkowej oraz uzyskuje zdolność migracji do miejsca przeznaczenia, gdzie może przejść proces odwrotny, prowadzący do

zmiany fenotypu mezenchymalnego z powrotem na nabłonkowy [16] (ryc.1).

EMT uznaje się za jeden z odgrywających główną rolę w procesie progresji raka i nabywaniu przez jego komórki zdolności przerzutowania [32].

#### PODZIAŁ PROCESU EMT

Chociaż EMT jest fizjologicznym procesem niezbędnym do prawidłowego rozwoju embrionalnego, jego aktywacja występuje także w niektórych stanach patologicznych, takich jak proces włóknienia czy progresja nowotworu złośliwego [6,93]. Ze względu na różne konsekwencje i odmienny kontekst biologiczny tych sytuacji wyróżnia się trzy podtypy EMT [47].

Podtyp I EMT (rozwojowy) odgrywa zasadniczą rolę w procesie embriogenezy, organogenezy i morfogenezy tkanek organizmów wielokomórkowych. Inicjuje przebieg gastrulacji prowadzący do wyodrębnienia się listków zarodkowych

(ektodermy, mezodermy oraz endodermy) z epiblastu (pierwotnej ektodermy) znajdującego się w obrębie smugi pierwotnej [68]. Co więcej, EMT odbywa się także w późniejszych etapach rozwojowych. Ma wpływ na formowanie się zastawek serca, fuzji podniebiennej, regresję przewodów Müllera u mężczyzn [14]. Ponadto przemijające, podobne reakcje jak w przebiegu EMT typu I zaobserwowano podczas rozwoju gruczołu sutkowego, a dokładniej podczas formowania się rozgałęzień przewodów mlecznych [26].

Podtyp II EMT pozwala na utrzymanie homeostazy tkanek, dzięki zdolności do indukcji regeneracji oraz przebudowy struktur po zadziałaniu czynników szkodliwych. Opisany jest również podczas włóknienia. Przebiega w środowisku zapalnym, gdzie jest regulowany przez liczne cytokiny prozapalne [47]. To jego charakterystyczna cecha i odróżniająca od podtypu I EMT. Wygaśnięcie zapalenia powoduje zatrzymanie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego i wygojenie rany [47]. Stała aktywacja EMT (przewlekłe zapalenie) leży u podstaw włóknienia tkanek i organów, a ostatecznie prowadzi do destrukcji i dysfunkcji narządów [104].

Podtyp III EMT jest ściśle związany z progresją oraz powstawaniem przerzutów odległych różnych nowotworów złośliwych. Jego inicjacja jest niezbędna, aby zaistniały wymienione procesy [47,101]. W odróżnieniu od podtypu I i II, które przebiegają w prawidłowej komórce, podtyp III EMT nakłada się na genetyczne i epigenetyczne nieprawidłowości stwierdzane w komórkach nowotworowych [90].

#### **ROLA I ZNACZENIE WEWNĄTRKOMÓRKOWYCH SIECI TRANSDUKCJI SYGNAŁÓW Z UDZIAŁEM TGF- $\beta$ W PATOGENIEZIE ZJAWISKA EMT**

Jednym z najlepiej poznanych mechanizmów transdukcji sygnałów w EMT jest droga sygnalizacyjna z udziałem transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- $\beta$ ). TGF- $\beta$  jest inhibitorem proliferacji prawidłowych komórek nabłonkowych, zatrzymując cykl komórkowy w fazie G1 [51,89]. Obecnie wiadomo jednak, że w komórkach zmienionych nowotworowo, TGF- $\beta$  pełni rolę promotora progresji karcynogenezy oraz powstawania odległych ognisk przerzutowych, a zjawisko to zostało nazwane paradoksem TGF- $\beta$  [10,37,73].

W komórkach nabłonkowych gruczołu piersiowego sygnalizacja TGF- $\beta$  może przebiegać dwiema drogami: podstawową (canonical) oraz alternatywną (noncanonical) [90].

Droga podstawowa jest aktywowana przez przyłączenie dimeru TGF- $\beta$  do receptora TGF- $\beta$  typu II (T $\beta$ R-II) lub TGF- $\beta$  typu III (T $\beta$ R-III) i ich aktywację [90]. Umożliwia to rekrutację i fosforylację receptora TGF- $\beta$  typu I (T $\beta$ R-I), a w efekcie jego aktywację. Następnie fosforylowane są ligandy receptora TGF- $\beta$  – Smad2 i Smad3 (R-Smad) [90]. Aktywacja Smad2/3 powoduje utworzenie heterokompleksu z białkiem Smad4 (co-Smad), który przedostając się do jądra komórkowego reguluje ekspresję TGF- $\beta$ -zależnych genów. Ta gałąź sygnalizacyjna nazywana jest także Smad2/3-zależna [90]; eskaluje mobilność komórek. Wśród białek Smad znajdują się również inhibitory Smad (I-Smad), należy do nich Smad 7, którego nadekspresja uniemożliwia indukcję EMT przez TGF- $\beta$  [96]. Interesujące wydaje się odkrycie, że przewlekła sygnalizacja TGF- $\beta$  prowadzi do

powstania komórek charakteryzujących się zredukowaną ekspresją Smad2/3 oraz opornością na cytostatyczne i promujące apoptozę działanie TGF- $\beta$  [27,96]. Można zatem przypuszczać, że główny mechanizm EMT jest ściśle związany z konwersją funkcji TGF- $\beta$  z supresora do promotora karcynogenezy (paradoksu TGF- $\beta$ ) [27]. Wykazano również, że niedobór Smad4 zapobiega EMT stymulowanemu przez TGF- $\beta$ , a nadmiar indukuje przerzuty raka piersi do kości w modelu zwierzęcym [19]. Dodatkowo inaktywacja Smad2/3 powoduje utratę zdolności TGF- $\beta$  do indukcji EMT w komórkach gruczołu piersiowego [109].

Amplifikacja sygnalizacji TGF- $\beta$  w sposób alternatywny (Smad2/3-niezależnej) odgrywa także istotną rolę w indukcji EMT. Jest ona związana z licznymi efektorami, m.in.: Par6, NF- $\kappa$ B, ILK, FAK, Src, Rho GTP-azami, kinazami MAP (np. ERK1/2, JNK, p38 MAPK) oraz szlakiem PI3K-Akt-mTOR [47,90]. GTP-azy rodziny Rho są białkami związanymi z GTP, zakotwiczone w błonie komórkowej, gdzie regulują dynamiczne procesy adhezji, polarności i mobilności komórkowej poprzez modulację formowania filopodiów (Cdc42), lamellipodiów (Rac1) i włókien naprężeniowych (RhoA) [34,35]. Molekularne sprzężenie TGF- $\beta$  z RhoA i RhoC koreluje ze zmienioną ekspresją E-kadheryny oraz  $\alpha$ -SMA podczas EMT [43,57]. Wykazano, że ekspresja i aktywacja RhoC wzmacnia aktywność procesów EMT oraz inwazję komórek nowotworowych raka piersi [86], gruczołu krokowego [81] oraz okrężnicy [7]. Zdolność TGF- $\beta$  do indukcji EMT wymaga aktywacji białka RhoA i jego efektora p160<sup>ROCK</sup> [8]. Ponadto udowodniono, że T $\beta$ RII-zależna fosforylacja Par6 leży u podstaw ubikwitynacji i degradacji RhoA, prowadzącej do rozpadu połączeń zamykających między komórkami podczas nabywania fenotypu charakterystycznego dla EMT [74,98]. Należy jednak zaznaczyć, że rola RhoA w regulacji EMT pozostaje wciąż niewyjaśniona, ponieważ doświadczenia prowadzone z wykorzystaniem micro-RNA (miR) wykazują sprzeczne rezultaty. Zwiększona ekspresja miR-155 w podstawowej drodze TGF-beta promuje EMT przez destrukcję mRNA RhoA [49]. Natomiast zredukowana ekspresja RhoA (kontrolowana przez miR-31) powoduje supresję, a nie promocję przerzutów raka piersi [95,96]. Opisane aktywności RhoA wskazują na jego niezwykle złożoną i nie do końca jeszcze wyjaśnioną rolę w procesie EMT.

#### **SZLAK PI3K/AKT/MTOR I JEGO ROLA W PROGRESJI EMT**

Stymulacja EMT przez TGF- $\beta$  wymaga także współdziałania kinazy fosfatydyloinozytolowej (PI3K) oraz Akt. Obydwie przyczyniają się do zwiększonej przeżywalności nowotworów przez hamowanie apoptozy, promują proliferację komórek oraz regulują ich zdolności do migracji i inwazji [25]. Ponadto wykazano, że PI3K oraz Akt pośredniczą w stymulacji EMT w komórkach gruczołu piersiowego – w sposób bezpośredni, po aktywacji przez TGF- $\beta$  lub pośrednio po aktywacji przez receptor dla EGF lub PDGF [45]. Co ciekawe, jednoczesne podawanie TGF- $\beta$  i EGF wywołuje wzmocnienie procesu EMT poprzez jednoczesną aktywację ERK1/2 i PI3K/Akt [94]. Zaskakujące jest natomiast to, że farmakologiczne zahamowanie PI3K/Akt nie miało wpływu na morfologię oraz inicjację powstania fenotypu mezenchymalnego, ale zmniejszyła zdolność TGF- $\beta$  i EGF do wywołania migracji i inwazji [94]. Odkrycie to sugeruje, że morfologia i mobilność w trakcie

EMT mogą być kontrolowane odrębnymi i niezależnymi od siebie mechanizmami. Inhibicja mTOR rapamycyną zapobiega fizycznemu powiększeniu komórki, ale także promocji i inwazji komórek nowotworowych po działaniu TGF-β [50]. Podobnie jak w przypadku PI3K i Akt, zahamowanie aktywności mTOR nie wpływa na morfologię komórki podczas EMT. Przypuszcza się, że mTOR może ułatwiać synergistyczne działanie TGF-β i EGF na EMT. Badania potwierdzają podstawową rolę ścieżki PI3K/Akt/mTOR w promocji EMT i tworzeniu przerzutów stymulowanych przez TGF-β, ale dalsze eksperymenty są niezbędne, aby wyjaśnić hipotetyczny brak związku między fenotypem mezenchymalnym komórek nowotworowych a ich mobilnością.

### JĄDROWY CZYNNIK κB (NF-κB) JAKO PROMOTOR PROCESU EMT

NF-κB to ważny plejotropowy czynnik transkrypcyjny. Odgrywa istotną rolę w regulacji inicjacji i zakończeniu reakcji zapalnej, a w przypadku nowotworów w promocji wzrostu, angiogenezy, inwazji oraz w hamowaniu apoptozy [48]. Jego konstytutywna aktywacja jest istotnym markerem molekularnym różnych typów nowotworów, w tym piersi, jelita grubego, trzustki, jajnika i czerniaka [13,21,23,69,88,100]. W tkankach nienowotworowych TGF-β zazwyczaj hamuje aktywację NF-κB. Jednak w komórkach raka piersi TGF-β zostaje przekształcony z inhibitora w aktywatora NF-κB, gdyż indukuje aktywność dużego kompleksu TβR-I: xIAP: TAB1: TAK1: IKKβ [70,71,72]. Aktywacja tego alternatywnego efektorowego systemu jest warunkiem indukcji EMT i rozwoju raka piersi [70,71,72]. Ciekawe wnioski przyniosły badania nad sprzężeniami funkcjonalnymi NF-κB i białka Ras w komórkach raka piersi. W komórkach tych NF-κB jest niezbędny do rozpoczęcia i utrzymania EMT. Utrata aktywności NF-κB znosi oporność komórek nowotworowych na apoptozę indukowaną przez TGF-β, ale też blokuje proces EMT [42]. W komórkach, w których stwierdza się morfologiczne wykładniki EMT, hamowanie NF-κB powoduje utratę cech mezenchymalnych przez nie, a przez to utratę zdolności do tworzenia ognisk metastatycznych. Interesujące jest to, że ponowne uaktywnienie NF-κB nadal stymuluje EMT nawet przy braku TGF-β [42]. Inne badanie wykazało, że sprzężenie TGF-β z NF-κB leży u podstaw zdolności komórek raka piersi ze zmodyfikowanym białkiem Ras do kolonizacji płuca [1,42] i ułatwia inicjację kaskady sygnalizacyjnej autokrynnego receptora Cox-2: PGE2: EP2, który nie tylko indukuje EMT w komórkach raka piersi, ale stymuluje także tworzenie przerzutów odległych [71,91].

### SZLAK KINAZ AKTYWOWANYCH MITOGENAMI (KINAZY MAP, MAPK)

Patologiczne EMT oraz tworzenie przerzutów indukowane przez TGF-β jest także związane ze stymulacją rodziny kinaz MAP, w tym: ERK, JNK, p38 MAPK [2,3,9,105]. Potwierdzają to badania, w których wykazano, że farmakologiczna inhibicja MEK1/2 (białko odpowiadające za fosforylację i aktywację MAPK) zapobiega stymulacji EMT przez TGF-β, a w następstwie tego nie występują swoiste zmiany, takie jak: formowanie się włókien naprężeniowych oraz utrata ekspresji E-kadheryny i ZO-1 w komórkach gruczołu piersiowego [105]. Podobne spostrzeżenia wynikają z doświadczeń, w których zakłócono sieć

transdukcyjną TGF-β z JNK, zapobiegając w ten sposób morfologicznym i transkrypcyjnym zmianom związanym z EMT [40,78]. Ciekawa jest również dynamiczna zależność między TGF-β a wytwarzaniem różnych komponentów ECM, które wzmacniają dodatkowo aktywację kinaz MAP podczas EMT. Na przykład ekspresja kolagenu typu I aktywuje PI3K, Akt i JNK, a te indukują EMT [82,83]. Co więcej, cytobiochemiczne sprzężenie TGF-β z witronektyną jest niezbędne w procesie fosforylacji TβRII przez Scr, które z kolei wpływa na aktywację p38 MAPK w komórkach gruczołu piersiowego [28,30].

### WPLYW KINAZY ZWIĄZANEJ Z INTEGRYNAMI (ILK) NA PROGRESJĘ PROCESU EMT

Powiązanie TGF-β z jego alternatywnymi efektorami jest dalej wzmacniane przez aktywację ILK, która jest białkową kinazą serynowo-treoninową powiązaną z aktywacją małych GTP-az, PI3K oraz kinazami MAP [20,36,39]. Aktywacja ILK prowadzi również do inhibicji aktywności GSK-3P, co stabilizuje β-kaeninę i umożliwia jej kumulację w jądrze komórkowym podczas EMT [36]. Podwyższona ekspresja ILK w komórkach gruczołu piersiowego jest związana ze zmniejszoną ekspresją E-kadheryny oraz ze zwiększoną inwazją i transformacją nowotworową wywoływaną przez aktywację ERK1/2 oraz Akt [87,103]. Natomiast niedobór ILK zapobiega stymulowaniu przez TGF-β migracji oraz inwazji, częściowo przez oddzielenie tej cytokiny od regulacji systemu uPA/PAI-1 [55]. Ostatecznie, pobudzone przez TGF-β Smad2/3 indukuje ekspresję PINCH-1, które bezpośrednio reaguje z ILK podczas inicjacji EMT, a następstwem tej interakcji jest utrata ekspresji E-kadheryny i ZO-1 [54]. Przytoczone badania jednoznacznie wskazują, że ILK stanowi cytobiochemiczny łącznik między integrynami i TGF-β, a rezultatem jego działania jest nieprawidłowa aktywność białek stymulująca nabywanie fenotypu mezenchymalnego przez komórki, ich migrację oraz tworzenie przerzutów [90].

### ROLA INTEGRYN ORAZ OGNISK PRZYLEGANIA PODCZAS EMT INDUKOWANYM PRZEZ TGF-β

Komunikacja między mikrośrodowiskiem komórek jest regulowana przez integryny, które kontrolują adhezję, migrację oraz inwazję, a także proliferację i przeżywalność komórek [41,62]. Komórki przechodzące transformację nowotworową wykazują zmieniony profil ekspresji integryny oraz ich zmienne powinowactwo do substratów ECM. Obydwa zjawiska zwiększają potencjał inwazyjny komórek nowotworowych i zdolność do tworzenia przerzutów [22]. Integryny, jako rodzina receptorów mają zdolności do bezpośredniego łączenia ECM z cytoszkieletem komórek, umożliwiając w ten sposób dwukierunkową transdukcję cytobiochemicznych sygnałów [52,53]. Ponadto, kinaza ognisk przylegania (focal adhesion kinase – FAK) służy jako molekularny pomost łączący integryny z receptorami dla EGF i PDGF. Jest to dowód na to, że te czynniki wzrostu biorą udział w migracji komórek [38,85]. Integryny odgrywają również ważną rolę w wywoływaniu EMT i migracji komórek stymulowanym przez TGF-β. Na przykład integryny αvβ6 i αvβ8 łączą kompleksy TGF-β i ułatwiają prezentację tej cytokiny jej powierzchniowym receptorom, prawdopodobnie przez promocję aktywacji MMP-14 [63,66,67]. TGF-β indukuje również ekspresję α3β1 i αvβ3, które nadają właściwości migracyjne i inwazyjne komórkom

gruczołu piersiowego [9,29,30,31]. Inne badanie dowodzi, że genetyczna bądź farmakologiczna inaktywacja  $\alpha\beta 3$  integryny w prawidłowych i zmienionych nowotworowo komórkach gruczołu piersiowego zapobiega indukcji EMT i tworzeniu się przerzutów w płucach stymulowanych przez TGF- $\beta$  [29,30]. Co więcej, podwyższona ekspresja  $\beta 3$  integryny wywołana przez TGF- $\beta$  powoduje formowanie kompleksu zależnego od FAK  $\beta$  integryna: T $\beta$ RII, który promuje aktywację Scr i fosforylację Scr receptora T $\beta$ RII w specyficznym miejscu (Y284) [30,102]. Po fosforylacji miejsce to koordynuje rekrutację i łączenie domen białkowych (Grb2 i ShcA), które promują aktywację p38 MAPK i inicjację EMT [29,30]. Bardzo istotne jest to, że czynniki zakłócające nowotworową oś sygnalizacyjną TGF- $\beta$ , całkowicie znoszą zdolność TGF- $\beta$  do indukcji EMT i promocji przerzutowania komórek raka piersi do płuc i kości [4,29,102].

### CZYNNIKI TRANSKRYPCYJNE REGULUJĄCE PROCES EMT

Ostateczne zmiany fenotypowe związane z aktywacją różnych szlaków sygnalizacyjnych, w tym drogi podstawowej i alternatywnej TGF- $\beta$ , powodowane są zmienioną ekspresją i represją genów ujawniających się w komórce. Rodzina białkowych palców cynkowych Snail (Snail1 i Snail2/Slug), rodzina ZEB (ZEB1 i ZEB2/SIP1), białko bHLH (basic helix-loop-helix) – Twist oraz rodzina czynników transkrypcyjnych kodowanych przez kasetę homeo (homeobox) – Six1 są uważane za główne czynniki transkrypcyjne regulujące proces EMT [65,75]. Grupa tych czynników jest koniecznym pośrednikiem podtypu I EMT, który zachodzi podczas embriogenezy i morfogenezy tkanek, jednak niewłaściwa reaktywacja rozwojowych programów EMT podczas nowotworzenia jest uważana za cechę progresji choroby i warunek powstawania przerzutów węzłowych i odległych [61,65,75]. Wszystkie wymienione wyżej czynniki są odpowiedzialne za obniżoną ekspresję E-kadheryny, z wyjątkiem Six1 [5,17,24,33,65,75,106]. Naukowcy zaproponowali model molekularnej supresji E-kadheryny, w którym Snail i ZEB 1 inicjują spadek ekspresji E-kadheryny, a potem Slug i ZEB 2 utrzymują zmniejszoną jej immunoreaktywność [76]. Snail, Slug i Twist są najbardziej znaczącymi induktorami EMT w komórkach nowotworowych [12,75,84,97]. Molekularny mechanizm działania wymienionych czynników jest podobny. Przykładowo, aktywowane białka Snail łączą się z Smad3 i Smad4, a następnie razem ukierunkowane są na konserwatywne sekwencje E-box w miejscach promotorowych E-kadheryny, okludyny i klaudyny, czego skutkiem jest silna represja tych białek oraz inaktywacja połączeń adhezyjnych (E-kadheryna) i ciasnych połączeń (okludyna i klaudyna) w trakcie EMT [44,99,110]. Zatem Snail, Slug i Twist są nie tylko represorami E-kadheryny, ale regulują również inne aspekty EMT. Dokładniej, Snail i Slug regulują stabilność połączeń zamykających [44], ekspresję białek połączeń typu gap [18], rozkład desmosomów [80] oraz ekspresję proteaz [46]. Wzrost immunoreaktywności

Snail i Slug pojawia się w odpowiedzi na liczne stymulatory EMT, m.in. TGF- $\beta$ , Wnt oraz niedotlenienie [15,77,108]. Twist natomiast indukuje ekspresję genów mezenchymalnych i inicjację inwazji przez komórki nowotworowe [106]. Podobnie jak Snail, Twist jest również celem licznych stymulatorów EMT [79,107].

Konwergencja licznych ścieżek sygnalizacyjnych prowadząca do Snail, Slug i Twist sugeruje, że są one krytycznymi węzłami w sieci sygnalizacyjnej EMT. Co ważne, połączenie Snail, Slug, Twist z EMT w badaniach *in vitro* jest zgodne z korelacją ich ekspresji ze złą prognozą w raku piersi. W naciekającym raku przewodowym, ekspresja Snail koreluje z przerzutami do węzłów chłonnych i ze zmniejszonym czasem wolnym od nawrotu choroby [11,64]. Z kolei nadekspresja Slug wykazuje ścisły związek z obecnością przerzutów węzłowych i odległych [56,106]. Twist również jest związany z niekorzystnymi wynikami w leczeniu raka piersi, koreluje z inwazyjnym rakiem zrazikowym i zmniejszonym czasem przeżycia [56,106].

Mechanizm białkowej homeodomeny Six1, indukującej proces EMT oraz tworzenie przerzutów wydaje się, przynajmniej częściowo, aktywowany przez TGF- $\beta$ . Six1 pełni analogiczną funkcję do Six2 w trakcie rozwoju, tj. indukuje cechy komórek macierzystych raka piersi [58,59]. Nadekspresja Six1 koreluje również ze złym rokowaniem u chorych na raka piersi. Pacjenci ze zwiększoną ekspresją Six1 mają więcej przerzutów w węzłach chłonnych, skrócony czas wolny od nawrotu choroby oraz czas przeżycia całkowitego [58].

Inny czynnik transkrypcyjny kodowany przez kasetę homeo – LBX1 (ladybird homeobox 1) również bierze udział w EMT. Jego nadekspresja indukuje proces EMT oraz ułatwia ekspansję komórek macierzystych raka piersi przez stymulację ekspresji TGF- $\beta$ , Snail, ZEB 1 i 2. Dodatkowo wykazano, że ekspresja LBX1 koreluje również z podtypem podstawnym raka piersi [109].

### PODSUMOWANIE

Większość prac nad EMT bazuje na ocenie tego procesu *in vitro* na hodowlach linii komórek raka. Potwierdzono jednak, że wiele czynników mających działanie indukujące EMT w hodowlach komórkowych może inicjować rozsiew raka u zwierząt i związanych jest ze złym rokowaniem w nowotworach człowieka. Nieprawidłowa ekspresja biomarkerów EMT może mieć zatem istotne znaczenie kliniczne w chorobie nowotworowej zarówno w aspekcie prognostycznym jak i terapeutycznym. EMT może się okazać fundamentem terapii celowanej, która mogłaby hamować lub uniemożliwiać proces przerzutowania z działaniem swoiście ukierunkowanym na komórki raka, bez uszkania prawidłowego nabłonka niewykazującego patologicznej ekspresji biomarkerów EMT [60].

### PIŚMIENICTWO

[1] Arsura M., Panta G.R., Bilyeu J.D., Cavin L.G., Sovak M.A., Oliver A.A., Factor V., Heuchel R., Mercurio F., Thorgeirsson S.S., Sonenshein G.E.: Transient activation of NF- $\kappa$ B through a TAK1/IKK kinase pathway by TGF- $\beta$ 1 inhibits AP-1/SMAD signaling and apoptosis: implications in liver tumor formation. *Oncogene*, 2003; 22: 412–425

[2] Atfi A., Djelloul S., Chastre E., Davis R., Gespach C.: Evidence for a role of Rho-like GTPases and stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase (SAPK/JNK) in transforming growth factor  $\beta$ -mediated signaling. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 1429–1432

- [3] Bakin A.V., Rinehart C., Tomlinson A.K., Arteaga C.L.: P38 mitogen-activated protein kinase is required for transforming growth factor- $\beta$ -mediated fibroblastic transdifferentiation and cell migration. *J. Cell Sci.*, 2002; 115: 3193–3206
- [4] Bandyopadhyay A., Agyin J.K., Wang L., Tang Y., Lei X., Story B.M., Cornell J.E., Pollock B.H., Mundy G.R., Sun L.Z.: Inhibition of pulmonary and skeletal metastasis by a TGF- $\beta$  type I receptor kinase inhibitor. *Cancer Res.*, 2006; 66: 6714–6721
- [5] Batlle E., Sancho E., Franci C., Domínguez D., Monfar M., Baulida J., García De Herreros A.: The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells. *Nat. Cell Biol.*, 2000; 2: 84–89
- [6] Baum B., Settleman J., Quinlan M.P.: Transitions between epithelial and mesenchymal states in development and disease. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2008; 19: 294–308
- [7] Bellovin D.I., Simpson K.J., Danilov T., Maynard E., Rimm D.L., Oettgen P., Mercurio A.M.: Reciprocal regulation of RhoA and RhoC characterizes the EMT and identifies RhoC as a prognostic marker of colon carcinoma. *Oncogene*, 2006; 25: 6959–6967
- [8] Bhowmick N.A., Ghiassi M., Bakin A., Aakre M., Lundquist C.A., Engel M.E., Arteaga C.L., Moses H.L.: Transforming growth factor- $\beta$ 1 mediates epithelial to mesenchymal transdifferentiation through a RhoA-dependent mechanism. *Mol. Biol. Cell*, 2001; 12: 27–36
- [9] Bhowmick N.A., Zent R., Ghiassi M., McDonnell M., Moses H.L.: Integrin  $\beta$ 1 signaling is necessary for transforming growth factor- $\beta$  activation of p38MAPK and epithelial plasticity. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 46707–46713
- [10] Bierie B., Moses, H.L.: Tumour microenvironment: TGF $\beta$ : the molecular Jekyll and Hyde of cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2006; 6: 506–520
- [11] Blanco M.J., Moreno-Bueno G., Sarrío D., Locascio A., Cano A., Palacios J., Nieto M.A.: Correlation of Snail expression with histological grade and lymph node status in breast carcinomas. *Oncogene*, 2002; 21: 3241–3246
- [12] Bolos V., Peinado H., Perez-Moreno M.A., Fraga M.F., Esteller M., Cano A.: The transcription factor Slug represses E-cadherin expression and induces epithelial to mesenchymal transitions: a comparison with Snail and E47 repressors. *J. Cell Sci.*, 2003; 116: 499–511
- [13] Bours V., Dejardin E., Goujon-Letawe F., Merville M.P., Castronovo V.: The NF- $\kappa$ B transcription factor and cancer: High expression of NF- $\kappa$ B- and I $\kappa$ B-related proteins in tumor cell lines. *Biochem. Pharmacol.*, 1994; 47: 145–149
- [14] Brett G., Hollier, Kurt Evans, Sendurai A. Mani.: The epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells: a coalition against cancer therapies. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2009; 14: 29–43
- [15] Cannito S., Novo E., Compagnone A., Valfre di Bonzo L., Busletta C., Zamara E., Paternostro C., Povero D., Bandino A., Bozzo F., Cravanzola C., Bravoco V., Colombatto S., Parola M.: Redox mechanisms switch on hypoxiaindependent epithelial-mesenchymal transition in cancer cells. *Carcinogenesis*, 2008; 29: 2267–2278
- [16] Chaffer C.L., Thompson E.W., Williams E.D.: Mesenchymal to epithelial transition in development and disease. *Cells Tissues Organs*, 2007; 185: 7–19
- [17] Comijn J., Bex G., Vermassen P., Verschueren K., van Grunsven L., Bruyneel E., Mareel M., Huylebroeck D., van Roy F.: The two-handed E box invasion zinc finger protein SIP1 downregulates E-cadherin and induces invasion. *Mol. Cell*, 2001; 7: 1267–1278
- [18] de Boer T.P., van Veen T.A., Bierhuizen M.F., Kok B., Rook M.B., Boonen KJ, Vos M.A., Doevendans P.A., de Bakker J.M., van der Heyden M.A.: Connexin43 repression following epitheliumto-mesenchyme transition in embryonal carcinoma cells requires Snail1 transcription factor. *Differentiation*, 2007; 75: 208–218
- [19] Deckers M., van DinterM., Buijs J., Que I., Lowik C., van der Pluijm G., ten Dijke P.: The tumor suppressor Smad4 is required for TGF- $\beta$ -induced epithelial to mesenchymal transition and bone metastasis of breast cancer cells. *Cancer Res.*, 2006; 66: 2202–2209
- [20] Dedhar S, Williams B, Hannigan G.: Integrin-linked kinase (ILK): a regulator of integrin and growth-factor signalling. *Trends Cell Biol.*, 1999; 9: 319–323
- [21] Dejardin E., Bonizzi G., Bellahcene A., Castronovo V., Merville M.P., Bours V.: Highly-expressed p100/p52 (NF $\kappa$ B2) sequesters other NF- $\kappa$ B-related proteins in the cytoplasm of human breast cancer cells. *Oncogene*, 1995; 11: 1835–1841
- [22] Desgrosellier J.S., Cheres D.A.: Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Cancer*, 2010; 10: 9–22
- [23] Duffey D.C., Chen Z., Dong G., Ondrey F.G., Wolf J.S., Brown K., Siebenlist U., Van Waes C.: Expression of a dominant-negative mutant inhibitor- $\kappa$ B $\alpha$  of nuclear factor- $\kappa$ B in human head and neck squamous cell carcinoma inhibits survival, proinflammatory cytokine expression, and tumor growth *in vivo*. *Cancer Res.*, 1999; 59: 3468–3474
- [24] Eger A., Aigner K., Sonderegger S., Dampier B., Oehler S., Schreiber M., Bex G., Cano A., Beug H., Foisner R.: DeltaEF1 is a transcriptional repressor of E-cadherin and regulates epithelial plasticity in breast cancer cells. *Oncogene*, 2005; 24: 2375–2385
- [25] Engelman J.A.: Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. *Nat. Rev. Cancer.*, 2009; 9: 550–562
- [26] Fata J.E., Werb Z., Bissell M.J.: Regulation of mammary gland branching morphogenesis by the extracellular matrix and its remodeling enzymes. *Breast Cancer Res.*, 2004; 6: 1–11
- [27] Gal A., Sjoblom T., Fedorova L., Imreh S., Beug H., Moustakas A.: Sustained TGF- $\beta$  exposure suppresses Smad and non-Smad signalling in mammary epithelial cells, leading to EMT and inhibition of growth arrest and apoptosis. *Oncogene*, 2008; 27: 1218–1230
- [28] Gallier A.J., Neil J.R., Schiemann W.P.: Role of transforming growth factor- $\beta$  in cancer progression. *Future Oncol.*, 2006; 2: 743–763
- [29] Gallier A.J., Schiemann W.P.: Src phosphorylates Tyr<sup>284</sup> in TGF- $\beta$  type II receptor and regulates TGF- $\beta$  stimulation of p38 MAPK during breast cancer cell proliferation and invasion. *Cancer Res.*, 2007; 67: 3752–3758
- [30] Gallier A.J., Schiemann W.P.:  $\beta$ 3 integrin and Src facilitate TGF- $\beta$  mediated induction of epithelial-mesenchymal transition in mammary epithelial cells. *Breast Cancer Res.*, 2006; 8: R42
- [31] Gallier-Beckley A.J., Schiemann W.P.: Grb2 binding to Tyr284 in T $\beta$ R-II is essential for mammary tumor growth and metastasis stimulated by TGF- $\beta$ . *Carcinogenesis*, 2008; 29: 244–251
- [32] Gavert N., Ben-Ze'ev A.: Epithelial-mesenchymal transition and the invasive potential of tumors. *Trends Mol. Med.*, 2008; 14: 199–209
- [33] Hajra K.M., Chen D.Y., Fearon E.R.: The SLUG zinc-finger protein represses E-cadherin in breast cancer. *Cancer Res.*, 2002; 62: 1613–1618
- [34] Hall A.: Rho GTPases and the control of cell behaviour. *Biochem. Soc. Trans.*, 2005; 33: 891–895
- [35] Hall A., Nobes C.D.: Rho GTPases: molecular switches that control the organization and dynamics of the actin cytoskeleton. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2000; 355: 965–970
- [36] Hannigan G., Troussard A.A., Dedhar S.: Integrin-linked kinase: a cancer therapeutic target unique among its ILK. *Nat. Rev. Cancer*, 2005; 5: 51–63
- [37] Hata A., Shi Y., Massague J.: TGF-beta signaling and cancer: structural and functional consequences of mutations in Smads. *Mol. Med. Today*, 1998; 4: 257–262
- [38] Hauck C.R., Sieg D.J., Hsia D.A., Loftus J.C., Gaarde W.A., Monia B.P., Schlaepfer D.D.: Inhibition of focal adhesion kinase expression or activity disrupts epidermal growth factor-stimulated signaling promoting the migration of invasive human carcinoma cells. *Cancer Res.*, 2001; 61: 7079–7090
- [39] Hehlhans S., Haase M., Cordes N.: Signalling via integrins: implications for cell survival and anticancer strategies. *Biochim Biophys. Acta.*, 2007; 1775: 163–180
- [40] Hocevar B.A., Prunier C., Howe P.H.: Disabled-2 (Dab2) mediates transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )-stimulated fibronectin synthesis through TGF- $\beta$ -activated kinase 1 and activation of the JNK pathway. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 25920–25927
- [41] Hood J.D., Cheres D.A.: Role of integrins in cell invasion and migration. *Nat. Rev. Cancer*, 2002; 2: 91–100
- [42] Huber M.A., Azoitei N., Baumann B., Grünert S., Sommer A., Pehamberger H., Kraut N., Beug H., Wirth T.: NF- $\kappa$ B is essential for epithelial-mesenchymal transition and metastasis in a model of breast cancer progression. *J. Clin. Invest.*, 2004; 114: 569–581
- [43] Hutchison N., Hendry B.M., Sharpe C.C.: Rho isoforms have distinct and specific functions in the process of epithelial to mesenchymal transition in renal proximal tubular cells. *Cell Signal.*, 2009; 21: 1522–1531
- [44] Ikenouchi J., Matsuda M., Furuse M., Tsukita S.: Regulation of tight junctions during the epithelium-mesenchyme transition: direct repression of the gene expression of claudins/occludin by Snail. *J. Cell Sci.*, 2003; 116: 1959–1967
- [45] Jechlinger M., Sommer A., Moriggl R., Seither P., Kraut N., Capodiecci P., Donovan M., Cordon-Cardo C., Beug H., Grünert S.: Autocrine PDGFR signaling promotes mammary cancer metastasis. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 1561–1570

- [46] Jorda M, Olmeda D, Vinyals A, Valero E, Cubillo E, Llorens A, Cano A, Fabra A.: Upregulation of MMP-9 in MDCK epithelial cell line in response to expression of the Snail transcription factor. *J. Cell Sci.*, 2005; 118: 3371–3385
- [47] Kalluri R., Weinberg R.A.: The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 1420–1428
- [48] Karin M.: NF- $\kappa$ B in cancer development and progression. *Nature*; 2006, 441: 431–436
- [49] Kong W., Yang H., He L., Zhao J.J., Coppola D., Dalton W.S., Cheng J.Q.: MicroRNA-155 is regulated by the TGF- $\beta$ /Smad pathway and contributes to epithelial cell plasticity by targeting RhoA. *Mol. Cell Biol.*, 2008; 28: 6773–6784
- [50] Lamouille S., Derynck R.: Cell size and invasion in TGF- $\beta$ -induced epithelial to mesenchymal transition is regulated by activation of the mTOR pathway. *J. Cell Biol.*, 2007; 178: 437–451
- [51] Lee K.Y., Bae S.C.: TGF- $\beta$ -dependent cell growth arrest and apoptosis. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 2002; 35: 47–53
- [52] Legate K.R., Wickstrom S.A., Fassler R.: Genetic and cell biological analysis of integrin outside-in signaling. *Genes Dev.*, 2009; 23: 397–418
- [53] Levental K.R., Yu H., Kass L., Lakins J.N., Egeblad M., Erler J.T., Fong S.F., Csiszar K., Giaccia A., Wenginger W., Yamauchi M., Gasser D.L., Weaver V.M.: Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell*, 2009; 139: 891–906
- [54] Li Y., Dai C., Wu C., Liu Y.: PINCH-1 promotes tubular epithelial-to-mesenchymal transition by interacting with integrin-linked kinase. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2007; 18: 2534–2543
- [55] Lin S.W., Ke F.C., Hsiao P.W., Lee P.P., Lee M.T., Hwang J.J.: Critical involvement of ILK in TGF $\beta$ 1-stimulated invasion/migration of human ovarian cancer cells is associated with urokinase plasminogen activator system. *Exp. Cell Res.*, 2007; 313: 602–613
- [56] Martin T.A., Goyal A., Watkins G., Jiang W.G.: Expression of the transcription factors snail, slug, and twist and their clinical significance in human breast cancer. *Ann. Surg. Oncol.*, 2005; 12: 488–496
- [57] Masszi A., Di Ciano C., Sirokmany G., Arthur W.T., Rotstein O.D., Wang J., McCulloch C.A., Rosivall L., Mucsi I., Kapus A.: Central role for Rho in TGF- $\beta$ 1-induced  $\alpha$ -smooth muscle actin expression during epithelial-mesenchymal transition. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2003; 284: 911–924
- [58] McCoy E.L., Iwanaga R., Jedlicka P., Abbey N.S., Chodosh L.A., Heichman K.A., Welm A.L., Ford H.L.: Six1 expands the mouse mammary epithelial stem/progenitor cell pool and induces mammary tumors that undergo epithelial-mesenchymal transition. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 2663–2677
- [59] Micalizzi D.S., Christensen K.L., Jedlicka P., Coletta R.D., Baron A.E., Harrell J.C., Horvitz K.B., Billheimer D., Heichman K.A., Welm A.L., Schiemann W.P., Ford H.L.: The Six1 homeoprotein induces human mammary carcinoma cells to undergo epithelial-mesenchymal transition and metastasis in mice through increasing TGF- $\beta$  signaling. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 2678–2690
- [60] Micalizzi D.S., Farabaugh S.M., Ford H.L.: Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2010; 15: 117–134
- [61] Micalizzi D.S., Ford H.L.: Epithelial-mesenchymal transition in development and cancer. *Future Oncol.*, 2009; 5: 1129–1143
- [62] Mizejewski G.J.: Role of integrins in cancer: survey of expression patterns. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1999; 222: 124–138
- [63] Mok S.C., Wong K.K., Chan R.K., Lau C.C., Tsao S.W., Knapp R.C., Berkowitz R.S.: Molecular cloning of differentially expressed genes in human epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.*, 1994; 52: 247–252
- [64] Moody S.E., Perez D., Pan T.C., Sarkisian C.J., Portocarrero C.P., Sterner C.J., Notorfrancesco K.L., Cardiff R.D., Chodosh L.A.: The transcriptional repressor Snail promotes mammary tumor recurrence. *Cancer Cell*, 2005; 8: 197–209
- [65] Moreno-Bueno G., Portillo F., Cano A.: Transcriptional regulation of cell polarity in EMT and cancer. *Oncogene*, 2008; 27: 6958–6969
- [66] Mu D., Cambier S., Fjellbirkeland L., Baron J.L., Munger J.S., Kawakatsu H., Sheppard D., Broadus V.C., Nishimura S.L.: The integrin  $\alpha$ v $\beta$ 8 mediates epithelial homeostasis through MT1-MMP-dependent activation of TGF- $\beta$ 1. *J. Cell Biol.*, 2002; 157: 493–507
- [67] Munger J.S., Huang X., Kawakatsu H., Griffiths M.J., Dalton S.L., Wu J., Pittet J.F., Kaminski N., Garat C., Matthey M.A., Rifkin D.B., Sheppard D.: The integrin  $\alpha$ v $\beta$ 6 binds and activates latent TGF- $\beta$ 1: a mechanism for regulating pulmonary inflammation and fibrosis. *Cell*, 1999; 96: 319–328
- [68] Nakaya Y., Sukowati E.W., Wu Y., Sheng G.: RhoA and microtubule dynamics control cell-basement membrane interaction in EMT during gastrulation. *Nat. Cell Biol.*, 2008; 10: 765–775
- [69] Nakshatri H., Bhat-Nakshatri P., Martin D.A., Goulet R.J. Jr, Sledge G.W. Jr.: Constitutive activation of NF- $\kappa$ B during progression of breast cancer to hormone-independent growth. *Mol. Cell Biol.*, 1997; 17: 3629–3639
- [70] Neil J.R., Johnson K.M., Nemenoff R.A., Schiemann W.P.: Cox-2 inactivates Smad signaling and enhances EMT stimulated by TGF- $\beta$  through a PGE2-dependent mechanisms. *Carcinogenesis*, 2008; 29: 2227–2235
- [71] Neil J.R., Schiemann W.P.: Altered TAB1:IkB kinase interaction promotes transforming growth factor- $\beta$ -mediated NF- $\kappa$ B activation during breast cancer progression. *Cancer Res.*, 2008; 68: 1462–1470
- [72] Neil J.R., Tian M., Schiemann W.P.: X-linked inhibitor of apoptosis protein and its E3 ligase activity promote transforming growth factor- $\beta$ -mediated nuclear factor- $\kappa$ B activation during breast cancer progression. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 21209–21217
- [73] Oft M., Heider K.H., Beug H.: TGF- $\beta$  signaling is necessary for carcinoma cell invasiveness and metastasis. *Curr. Biol.*, 1998; 8: 1243–1252
- [74] Ozdamar B., Bose R., Barrios-Rodiles M., Wang H.R., Zhang Y., Wrana J.L.: Regulation of the polarity protein Par6 by TGF- $\beta$  receptors controls epithelial cell plasticity. *Science*, 2005; 307: 1603–1609
- [75] Peinado H., Olmeda D., Cano A.: Snail, Zeb and bHLH factors in tumor progression: an alliance against the epithelial phenotype? *Nat. Rev. Cancer*, 2007; 7: 415–428
- [76] Peinado H., Portillo F., Cano A.: Transcriptional regulation of cadherins during development and carcinogenesis. *Int. J. Dev. Biol.*, 2004; 48: 365–375
- [77] Peinado H., Quintanilla M., Cano A.: Transforming growth factor beta-1 induces snail transcription factor in epithelial cell lines: mechanisms for epithelial mesenchymal transitions. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 21113–21123
- [78] Santibanez J.F.: JNK mediates TGF- $\beta$ 1-induced epithelial mesenchymal transdifferentiation of mouse transformed keratinocytes. *FEBS Lett.*, 2006; 580: 5385–5391
- [79] Satoh K., Hamada S., Kimura K., Kanno A., Hirota M., Umino J., Fujibuchi W., Masamune A., Tanaka N., Miura K., Egawa S., Motoi F., Unno M., Vonderhaar B.K., Shimosegawa T.: Up-regulation of MSX2 enhances the malignant phenotype and is associated with twist 1 expression in human pancreatic cancer cells. *Am. J. Pathol.*, 2008; 172: 926–939
- [80] Savagner P., Yamada K.M., Thiery J.P.: The zinc-finger protein slug causes desmosome dissociation, an initial and necessary step for growth factor-induced epithelial-mesenchymal transition. *J. Cell Biol.*, 1997; 137: 1403–1419
- [81] Sequeira L., DUBY C.W., Riesenberger T.A., Cooper C.R., van Golen K.L.: Rho GTPases in PC-3 prostate cancer cell morphology, invasion and tumor cell diapedesis. *Clin. Exp. Metastasis*, 2008; 25: 569–579
- [82] Shintani Y., Hollingsworth M.A., Wheelock M.J., Johnson K.R.: Collagen I promotes metastasis in pancreatic cancer by activating c-Jun NH(2)-terminal kinase 1 and up-regulating N-cadherin expression. *Cancer Res.*, 2006; 66: 11745–11753
- [83] Shintani Y., Wheelock M.J., Johnson K.R.: Phosphoinositide-3 kinase-Rac1-c-Jun NH2-terminal kinase signaling mediates collagen I-induced cell scattering and up-regulation of N-cadherin expression in mouse mammary epithelial cells. *Mol. Biol. Cell*, 2006; 17: 2963–2975
- [84] Shook D., Keller R.: Mechanisms, mechanics and function of epithelial-mesenchymal transitions in early development. *Mech. Dev.*, 2003; 120: 1351–1383
- [85] Sieg D.J., Hauck C.R., Ilic D., Klingbeil C.K., Schaefer E., Damsky C.H., Schlaepfer D.D.: FAK integrates growth-factor and integrin signals to promote cell migration. *Nat. Cell Biol.*, 2000; 2: 249–256
- [86] Simpson K.J., Dugan A.S., Mercurio A.M.: Functional analysis of the contribution of RhoA and RhoC GTPases to invasive breast carcinoma. *Cancer Res.*, 2004; 64: 8694–8701
- [87] Somasiri A., Howarth A., Goswami D., Dedhar S., Roskelley C.D.: Overexpression of the integrin-linked kinase mesenchymally transforms mammary epithelial cells. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 1125–1136
- [88] Sovak M.A., Bellas R.E., Kim D.W., Zanieski G.J., Rogers A.E., Traish A.M., Sonenshein G.E.: Aberrant nuclear factor-kappaB/Rel expression and the pathogenesis of breast cancer. *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 2952–2960
- [89] Stalińska L., Ferenc T.: Rola TGF- $\beta$  w regulacji cyklu komórkowego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 441–449



- [90] Taylor M.A., Parvani J.G., Schiemann W.P.: The pathophysiology of epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor-β in normal and malignant mammary epithelial cells. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2010; 15: 169–190
- [91] Tian M., Schiemann W.P.: PGE2 receptor EP2 mediates the antagonistic effect of COX-2 on TGF-β signaling during mammary tumorigenesis. *FASEB J.*, 2010; 24: 1105–1116
- [92] Townsend T.A., Wrana J.L., Davis G.E., Barnett J.V.: Transforming growth factor-beta-stimulated endothelial cell transformation is dependent on Par6c regulation of RhoA. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 13834–13841
- [93] Turley E.A., Veiseh M., Radisky D.C., Bissell M.J.: Mechanisms of disease: epithelial-mesenchymal transition – does cellular plasticity fuel neoplastic progression? *Nat. Clin. Pract. Oncol.*, 2008; 5: 280–290
- [94] Uttamsingh S., Bao X., Nguyen K.T., Bhanot M., Gong J., Chan J.L., Liu F., Chu T.T., Wang L.H.: Synergistic effect between EGF and TGF-β1 in inducing oncogenic properties of intestinal epithelial cells. *Oncogene*, 2008; 27: 2626–2634
- [95] Valastyan S., Reinhardt F., Benaich N., Calogrias D., Szasz A.M., Wang Z.C., Brock J.E., Richardson A.L., Weinberg R.A.: A pleiotropically acting microRNA, miR-31, inhibits breast cancer metastasis. *Cell*, 2009; 137: 1032–1046
- [96] Valcourt U., Kowanzet M., Niimi H., Heldin C.H., Moustakas A.: TGF-β and the Smad signaling pathway support transcriptomic reprogramming during epithelial-mesenchymal cell transition. *Mol. Biol. Cell*, 2005; 16: 1987–2002
- [97] Vesuna F., van Diest P., Chen J.H., Raman V.: Twist is a transcriptional repressor of E-cadherin gene expression in breast cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008; 367: 235–241
- [98] Vitoria-Petit A.M., David L., Jia J.Y., Erdemir T., Bane A.L., Pinnaduwege D., Roncari L., Narimatsu M., Bose R., Moffat J., Wong J.W., Kerbel R.S., O'Malley F.P., Andrusis I.L., Wrana J.L.: A role for the TGF-β-Par6 polarity pathway in breast cancer progression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 14028–14033
- [99] Vincent T., Neve E.P., Johnson J.R., Kukalev A., Rojo F., Albanell J., Pietras K., Virtanen I., Philipson L., Leopold P.L., Crystal R.G., de Herreros A.G., Moustakas A., Pettersson R.F., Fuxe J.: A SNAIL1-SMAD3/4 transcriptional repressor complex promotes TGF-β mediated epithelial-mesenchymal transition. *Nat. Cell Biol.*, 2009; 11: 943–950
- [100] Wang W., Abbruzzese J.L., Evans D.B., Larry L., Cleary K.R., Chiao P.J.: The nuclear factor-kappa B RelA transcription factor is constitutively activated in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Clin. Cancer Res.*, 1999; 5: 119–127
- [101] Wendt M.K., Allington T.M., Schiemann W.P.: Mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition by TGF-β. *Future Oncol.*, 2009; 5: 1145–1168
- [102] Wendt M.K., Schiemann W.P.: Therapeutic targeting of the focal adhesion complex prevents oncogenic TGF-β signaling and metastasis. *Breast Cancer Res.*, 2009; 11: R68
- [103] White D.E., Cardiff R.D., Dedhar S., Muller W.J.: Mammary epithelial-specific expression of the integrin-linked kinase (ILK) results in the induction of mammary gland hyperplasias and tumors in transgenic mice. *Oncogene*, 2001; 20: 7064–7072
- [104] Wynn T.A.: Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.*, 2008, 214: 199–210
- [105] Xie L., Law B.K., Chytil A.M., Brown K.A., Aakre M.E., Moses H.L.: Activation of the Erk pathway is required for TGF-β1-induced EMT *in vitro*. *Neoplasia*, 2004; 6: 603–610
- [106] Yang J., Mani S.A., Donaher J.L., Ramaswamy S., Itzykson R.A., Come C., Savagner P., Gitelman I., Richardson A., Weinberg R.A.: Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell*, 2004; 117: 927–939
- [107] Yang M.H., Wu K.J.: TWIST activation by hypoxia inducible factor-1 (HIF-1): implications in metastasis and development. *Cell Cycle*, 2008; 7: 2090–2096
- [108] Yook J.I., Li X.Y., Ota I., Hu C., Kim H.S., Kim N.H., Cha S.Y., Ryu J.K., Choi Y.J., Kim J., Fearon E.R., Weiss S.J.: A Wnt-Axin2-GSK3beta cascade regulates Snail1 activity in breast cancer cells. *Nat. Cell Biol.*, 2006; 8: 1398–1406
- [109] Yu M., Smolen G.A., Zhang J., Wittner B., Schott B.J., Brachtel E., Ramaswamy S., Maheswaran S., Haber D.A.: A developmentally regulated inducer of EMT, Lbx1, contributes to breast cancer progression. *Genes Dev.*, 2009; 23: 1737–1742
- [110] Zhao B.M., Hoffmann F.M.: Inhibition of TGF-β1-induced signaling and epithelial-to-mesenchymal transition by the Smad-binding peptide aptamer Trx-SARA. *Mol. Biol. Cell*, 2006; 17: 3819–3831

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.