

参考文献

- 1 Tsao H, Sober AJ. Melanoma treatment update[J]. *Dermatol Clin*, 2005, 23(2): 323-333
- 2 吴包金, 江华. 黑色素瘤侵袭与转移相关生物学因素的研究进展[J]. *中华整形外科杂志*, 2010, 26(5): 397-400
- 3 Slettenaar VI, Wilson JL. The chemokine network: a target in cancer biology? [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58(8): 962-974
- 4 吴包金, 江华, 李文鹏, 等. CXCR4 靶向 shRNA 质粒载体的制备和体外鉴定[J]. *中国美容医学*, 19(8): 1167-1170, 2012
- 5 Kim J, Mori T, Chen SL, *et al.* Chemokine receptor CXCR4 expression in patients with melanoma and colorectal cancer liver metastases and the association with disease outcome[J]. *Ann Surg*, 2006, 244(1): 113-120
- 6 Scala S, Giuliano P, Ascierto PA, *et al.* Human melanoma metastases express functional CXCR4[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(8): 2427
- 7 Zeelenberg IS, Ruuls-Van Stalle L, Roos E. The chemokine receptor CXCR4 is required for outgrowth of colon carcinoma micrometastases[J]. *Cancer Res*, 2003, 63: 3833-3839
- 8 Castellone MD, Guarino V, De Falco V, *et al.* Functional expression of the CXCR4 chemokine receptor is induced by RET/PTC oncogenes and is a common event in human papillary thyroid carcinomas[J]. *Oncogene*, 2004, 23: 5958-5967
- 9 Pushparaj PN, Aarthi JJ, Manikandan J, *et al.* siRNA, miRNA, and shRNA: in vivo applications[J]. *J Dent Res*, 2008, 87(11): 992-1003
- 10 Bernards R, Brummelkamp TR, Beijersbergen RL. shRNA libraries and their use in cancer genetics[J]. *Nat Methods*, 2006, 3(9): 701-716
- 11 张孟贤, 韩娜, 于世英, 等. 趋化性细胞因子受体 CXCR4 基因沉默对乳腺癌细胞体外侵袭和定向肺转移的影响[J]. *中华肿瘤杂志*, 2008, 30(5): 325-329
- 12 Yu K, Zhuang J, Kaminski JM, *et al.* CXCR4 down-regulation by small interfering RNA inhibits invasion and tubule formation of human testicular microvascular endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 358(4): 990-996
- 13 Di Cesare S, Marshall JC, Fernandes BF, *et al.* In vitro characterization and inhibition of the CXCR4/CXCL12 chemokine axis in human uveal melanoma cell lines[J]. *Cancer Cell Int*, 2007, 7: 17
- 14 赵丽, 屈百鸣, 马元, 等. 心肌 1 号对异丙肾上腺素心肌损伤大鼠 SDF-1/CXCR4 轴及 bFGF 的影响[J]. *医学研究杂志*, 2013, 42(3): 130-133

(收稿日期:2015-11-19)

(修回日期:2015-11-28)

沉默 Kif5b 赋予 MDCK 细胞干性

崔 菊 金国祥 雷霆 王 在 黄建东 蔡剑平

摘 要 **目的** 观察沉默 Kif5b 对上皮细胞 MDCK 的影响并探讨 Kif5b 表达水平与细胞分化程度的相关性。**方法** 设计构建靶向 Kif5b 基因的短发卡 RNA (shRNA) 质粒载体, 并转染犬肾上皮细胞株 MDCK, 检测其对 Kif5b 表达的抑制作用; 采用 Western blot 法检测 E-钙黏蛋白 (E-cadherin), N-钙黏蛋白 (N-cadherin), 波形蛋白 (vimentin) 在各组细胞中的表达差异; 通过细胞诱导液培养检测细胞分化为脂肪细胞和成骨细胞的能力。**结果** 从形态上看, 对照组 MDCK 细胞间紧密相连, 呈鹅卵石状分布, 而 Kif5b 沉默的细胞呈成纤维细胞状; 与对照组相比, 转染 Kif5b-shRNA 显著抑制 Kif5b 的表达, 同时 E-cadherin 的表达下降, N-cadherin 和 vimentin 的表达上升, 细胞抵抗胰蛋白酶消化的能力降低; 沉默 Kif5b 的 MDCK 细胞能被分化为脂肪细胞和成骨细胞; 此外, Kif5b 在 MDCK 中的表达量显著高于小鼠间充质干细胞 (mesenchymal stem cell)。**结论** 在 MDCK 细胞中沉默 Kif5b 诱导 MDCK 细胞经历上皮细胞-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition) 过程, 去分化为间充质干细胞样细胞, 去分化的细胞能够被转分化为特化的脂肪细胞和成骨细胞。Kif5b 的表达量与细胞的分化程度呈正相关。

关键词 Kinesin-1 MDCK 细胞 上皮细胞-间充质转化 间充质干细胞

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.05.014

Knockdown of Kif5b Confers Stem Cell Properties to MDCK Cells. Cui Ju, Jin Guoxiang, Lei Ting, *et al.* The Key Laboratory of Geriatrics, Beijing Hospital & Beijing Institute of Geriatrics, Ministry of Health, Beijing 100730, China

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (31400995); 北京市自然科学基金资助项目 (7154234)

作者单位: 100730 北京医院、卫生部北京老年医学研究所、卫生部老年医学重点实验室 (崔菊、蔡剑平); 香港大学李嘉诚医学院生物医学科学学院 (崔菊、金国祥、雷霆、王在、黄建东); 100029 北京, 中日友好医院临床医学研究所 (王在); 518055 中国科学院深圳先进技术研究院 (黄建东)

通讯作者: 蔡剑平, 电子信箱: caijp51@vip.sina.com; 黄建东, 电子信箱: jdhuang@hku.hk

Abstract Objective To investigate the function(s) of Kif5b in MDCK cells and to examine the relevance of Kif5b expression level and cell stemness. **Methods** Stable Kif5b deficient MDCK cells were generated by using pSilencer 3.1 - H1 hygro siRNA expression system. Western blot was used to examine the knockdown efficiency of Kif5b and the expression levels of EMT markers, such as E - cadherin, N - cadherin, vimentin and β - catenin. The strengths between cell contacts were evaluated by trypsin digestion. The ability of the cells to be differentiated to adipocyte and osteoblast was examined by culturing the cells with differentiation medium followed by Oil red O or Alizarin Red S staining. Furthermore, the expression levels of Kif5b in MDCK cells and mouse mesenchymal stem cells (MSC) were compared by Western blot. **Results** MDCK cells transfected with Kif5b - shRNA had 90% knockdown efficiency. Kif5b deficient MDCK cells had profound changes in cell morphology resembling mesenchymal cells, decreased resistance to trypsin digestion and acquired the EMT phenotype, which was characterized by down - regulation of E - cadherin and up - regulation of N - cadherin and vimentin. Besides, these cells gained the ability to be differentiated to adipocyte and osteoblast, resembling mesenchymal stem cells. Furthermore, expression level of Kif5b in MDCK cells was significantly higher than that in MSC. **Conclusion** Silencing of Kif5b in MDCK cells triggers Epithelial - Mesenchymal transition and confers mesenchymal stem cell properties. The expression level of Kif5b is negatively related to cell stemness.

Key words Kinesin - 1; MDCK cell; Epithelial - mesenchymal transition; Mesenchymal stem cell

上皮细胞极性的建立和维持离不开微管介导的高效有序的胞内运输。微管上的驱动蛋白(Kinesin)是一类蛋白质超级家族,属于马达蛋白的一种。整个驱动蛋白超家族包含着 15 个 Kinesin 家族,从 Kinesin - 1 到 Kinesin - 14B^[1]。Kinesin - 1 是一个异源四聚体,由两条重链(KHC)和两条轻链(KLC)组成。在人和小鼠体内,存在 3 种 KHC 基因(Kif5a, Kif5b 和 Kif5c)和两种 KLC 基因(Klc1 和 Klc2)。Kif5a, Kif5c 和 Klc1 在神经组织中特异表达,而 Kif5b 和 Klc2 在各个组织中普遍表达^[2]。MDCK 细胞是 S. H. Madin 和 N. B. Darby 于 1958 年建立的细胞系,其来源于狗肾脏远曲小管上皮细胞,其被广泛用作上皮细胞极性的建立和维持研究的模型^[3]。笔者前期研究发现,Kif5b 在成年小鼠肾脏的远曲小管和髓祥中表达,并且呈极性分布于上皮细胞的基底部(basolateral domain)^[4]。据此,笔者提出假设,Kinesin - 1 参与了靶向上皮细胞基底部的胞内运输过程,从而在上皮细胞极性形成和维持过程中发挥功能。

上皮细胞 - 间充质转化(epithelial - mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞通过特定程序转化为具有间质表型细胞的生物学过程,在胚胎发育、伤口愈合和肿瘤转移中发挥了重要作用,其主要的特征有上皮细胞特异蛋白表达的减少[E - 钙黏蛋白(E - cadherin)和角蛋白(cytokeratin)]和间充质细胞特异蛋白表达的增加[波形蛋白(vimentin)]^[5,6]。最近的系列研究报道表明,通过诱导细胞经历 EMT 转化能够获得含有干细胞类似特征的细胞^[7,8]。人乳腺上皮细胞(human mammary epithelial cells, HMLEs)通过 EMT 转化获得了 CD44^{high}/CD24^{low} 抗原表达,这与其在间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)

中的表达情况一致。同时在 HMLEs 细胞中,通过细胞流式分选获得的干细胞样细胞(stem - like CD44^{high}/CD24^{low} cells)表达 EMT 相关的蛋白^[7,8]。另外通过 EMT 去分化的细胞能够自我更新同时又能够分化产生不同组织的特化细胞,包括成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞^[9]。这些研究提示,EMT 能够诱导正常上皮细胞重新编程,从而获得多能性和转分化能力。

本研究旨在观察 Kinesin - 1 的重链 Kif5b 对上皮细胞生物学行为的影响,探讨其与上皮细胞 - 间质细胞转化(EMT)、细胞多能性的关系。

材料与方法

1. 材料:MDCK 细胞株(来源于香港大学巴斯德研究中心 HKU - Pasteur Research Centre, HKU);间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC,来源于香港大学生物化学系);pSilencerTM 3.1 - H1 hygro siRNA 表达载体、DMEM 培养基、胎牛血清购自美国 Invitrogen 公司;油红 O (Oil Red O), Alizarin Red S 购自美国 Sigma 公司;BamH I 和 Hind III 内切酶购自美国 BioLabs 公司;细胞培养皿购自日本 IWAKI 公司;Fugene 6 转染试剂购自德国 Roche 公司;兔源 Kif5b 抗体由本室制备;鼠源 E - cadherin 抗体、鼠源 N - cadherin 抗体、鼠源 β - catenin 抗体购自美国 BD Transduction Laboratories 公司;鼠源 Vimentin 抗体购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司;兔源 β - Actin 抗体购自美国 Sigma 公司。

2. 方法:(1) pSilencer Kif5b - siRNA 表达载体构建:针对 Kif5b 基因设计小干扰 RNA (siRNA)寡核苷酸序列 5' - GCCTTATGCATTGATCGG - 3',合成短发卡 shRNA 结构,并克隆至 pSilencerTM 3.1 - H1 hygro siRNA 表达载体 BamH I /Hind III 位点构建形成

Kif5b - shRNA 表达载体。该 siRNA 序列位于 Kif5b 的马达区域 (motor domain)。BLAST 显示该序列与其他基因的相似度极低,表明其脱靶概率很小。(2) 细胞转染、稳定细胞株筛选:将 MDCK 细胞以 3×10^5 每孔的密度接种于 6 孔细胞培养板中并分组:①对照组:转染 pSilencer™ 3.1 - H1 对照质粒(由试剂盒提供,其表达发卡 siRNA 与人、小鼠、大鼠和狗基因组中已知的所有基因相似度极低);②siRNA 组:转染 Kif5b - siRNA 表达质粒。按照 Fugene 6 说明书进行细胞转染,将 6 μ l Fugene 6 稀释于 94 μ l Opti - MEM 中,混匀静置 5min,然后加入 1 μ g 质粒 DNA,混匀静置 20min,然后将 DNA 复合体逐滴加入到细胞培养板中。质粒 DNA 转染 48h 后,350 μ g/ml 潮霉素加入到细胞培养液中筛选稳定细胞株。(3) Western blot 法检测:用细胞裂解液 [10mmol/L Tris - Cl (pH 7.4), 0.15mol/L NaCl, 5mmol/L EDTA, 1% Triton X - 100] 提取各组细胞总蛋白,检测 Kif5b、E - cadherin、N - cadherin、vimentin 和 β - catenin 的表达量。(4) 细胞分化:细胞接种于 6 孔板中,以含有 10% 胎牛血清及 350 μ g/ml 潮霉素的 DMEM 培养细胞。细胞接种 24h 后,细胞培养液换为脂肪分化培养液 (50 μ mol/L Indomethacin, 1 μ mol/L Dexamethasone, 0.5 μ mol/L 3 - isobutyl - 1 - methyloxanthine, 350 μ g/ml Hygromycin, 10% FBS, DMEM) 或成骨细胞分化液 (100 μ mol/L Dexamethasone, 50 μ mol/L Ascorbic acid phosphate, 10mmol/L β - Glycerol phosphate, 350 μ g/ml hygromycin, 10% FBS, DMEM) 诱导细胞分化。每 3 天换 1 次细胞培养液。(5) 油红 O 工作液配置:0.3g Oil Red O 溶于 100 ml 异丙醇调配成油红 O 储存液。以用蒸馏水按照 3:2 (油红 O 储存液:双蒸水) 的比例新鲜稀释油红 O 储存液为油红 O 工作液,室温放置 10min,过滤。(6) 油红 O 染色:细胞诱导分化后,先用 2ml PBS 轻柔润洗,然后用 10% 甲醛溶液在室温固定 30 ~ 60min。细胞固定后,先用双蒸水润洗去除残余甲醛,接着用 60% 异丙醇润洗 2 ~ 5min,最后用 Oil Red O 工作液 (0.3g Oil Red O 溶于 100ml 异丙醇后,用双蒸水按照 2:3 的比例稀释) 染 5 ~ 10min,60% 异丙醇稍洗去多余染液,蒸馏水洗直到水变澄清。(7) Alizarin Red S 染色:细胞经 PBS 润洗 3 遍后用预冷 70% 乙醇在室温固定 5min。细胞固定后再用双蒸水润洗两次,每次 5min。细胞经新鲜配置 2% Alizarin Red S (2g Alizarin Red S 溶于 100ml 双蒸水,用 10% 氢氧化铵调整 pH 值到 4.1 ~ 4.3) 染色

3min 后,用双蒸水润洗 5 次。

3. 统计学方法:Western blot 法检测结果灰度经 ImageJ 分析,结果以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,数据比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 沉默 Kif5b 诱导 MDCK 发生上皮细胞 - 间充质转化:通过构建 shRNA 表达载体并转染 MDCK 细胞,筛选到了 siKif5b - MDCK 稳定细胞株。从形态上来看,对照组 MDCK 细胞间紧密相连,呈鹅卵石状分布,而沉默 Kif5b 的细胞呈成纤维细胞状 (图 1A)。细胞完全汇合后,对照组细胞具有上皮细胞的特性,细胞贴壁很紧,细胞间形成紧密连接 (tight junction) 和黏着连接 (adhesion junction)。因此,在常温下,细胞很难被胰蛋白酶消化,通常这一过程需要半个多小时。然而,沉默 Kif5b 显著降低了细胞抵抗胰蛋白酶消化的能力,只需要 5 ~ 6min 细胞开始缩小变圆,出现细胞间隙 (图 1B)。细胞形状变长和抵抗胰蛋白酶消化的能力减弱表明沉默 Kif5b 有可能诱导 MDCK 细胞经历了上皮细胞 - 间充质转化 (epithelial - mesenchymal transition, EMT)。

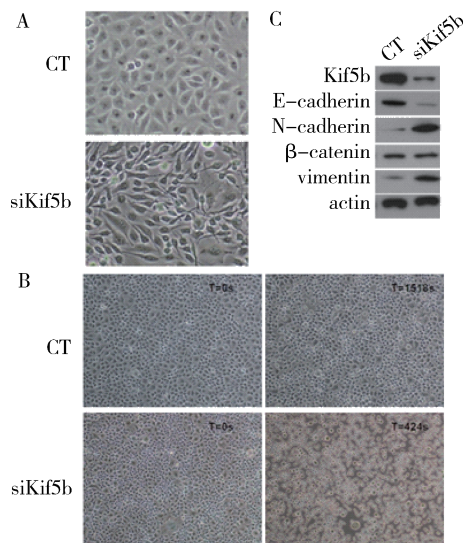


图 1 siKif5b - MDCK 细胞发生上皮细胞 - 间充质转化 (EMT)

A. siKif5b 细胞形态发生变化; B. 100% 汇合的单层 siKif5b 细胞被胰蛋白酶消化为单细胞的时间显著缩短; C. siKif5b 细胞中 E - cadherin 的表达下降, N - cadherin 和 vimentin 的表达上升

EMT 是指上皮细胞通过特定程序缺失了上皮细胞特有的顶端 - 基底端极性和细胞间连接的特性,而转化为具有间质表型细胞特征的生物学过程,表现为

细胞骨架重组,以及相关特异蛋白表达的变化。Western blot 法检测显示,沉默 Kif5b 能够引起钙黏蛋白表达转换。在对照组 MDCK 细胞中,上皮细胞特异蛋白 E - 钙黏蛋白 (E - cadherin) 的表达很高。沉默 Kif5b 后,E - cadherin 的表达量显著降低,同时 N - 钙黏蛋白 (N - cadherin) 的表达量显著上升。波形蛋白 (vimentin) 是间质细胞的特异表达蛋白。转染对照质粒的 MDCK 细胞表达微量的 vimentin,这一结果与之前有关 vimentin 在野生 MDCK 细胞中的表达情况的研究结果一致。然而 vimentin 在 Kif5b 缺失的 MDCK 细胞中表达量显著上升。Kif5b 沉默前后, β - 链蛋白 (β - catenin) 的表达没有变化。

2. 沉默 Kif5b 诱导 MDCK 细胞转化为间充质干细胞:间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是多功能性的干细胞,其能够被分化为不同组织的特化细胞,包括成骨细胞,软骨细胞和脂肪细胞。在体外诱导 MSCs 分化为软骨细胞的过程中,需要在培养基中添加 TGF - β 1,而 TGF - β 1 能够诱导 EMT。因此,本研究检验了 siKif5b - MDCK 细胞分化为成骨细胞和脂肪细胞的能力。在脂肪细胞分化培养基或者 DMEM 培养基中分别培养 CT - MDCK 和 siKif5b - MDCK 细胞,取不同培养时间的细胞做油红 O 染色分析 (图 2)。诱导一个星期,CT - MDCK 和 siKif5b - MDCK 细胞都不能分化为脂肪细胞。诱导两个星期之后,培养于脂肪细胞分化培养基中的 siKif5b - MDCK 细胞经油红 O 染色显示阳性,而培养于 DMEM 培养基中的 siKif5b - MDCK 细胞经油红 O 染色显示为阴性。诱导 3 周之后,培养于脂肪细胞分化培养基中的 siKif5b - MDCK 细胞经油红 O 染色显示强阳性,培养于 DMEM 培养基中的 siKif5b - MDCK 细胞经油红 O 染色显示仍然为阴性。在这个过程中,CT - MDCK 细胞在各种培养基,不同培养时间下均显示油红 O 染色阴性。这一结果表明 siKif5b - MDCK 细胞能够被分化为脂肪细胞。

为了评估细胞分化为成骨细胞的能力,CT - MDCK 和 siKif5b - MDCK 细胞以不同的细胞密度接种于 6 孔板,在成骨细胞诱导培养基中培养 4 个星期 (图 3)。细胞的分化能力通过 Alizarin Red S 染色来评估。结果显示,siKif5b - MDCK 细胞能够被诱导分化为成骨细胞 (Alizarin Red S 染色后显示红色),同时细胞分化水平与细胞密度负相关。

为了进一步明确 Kif5b 的表达量和细胞分化程度的相关性,Kif5b 在 MSC 细胞和 MDCK 细胞中的表

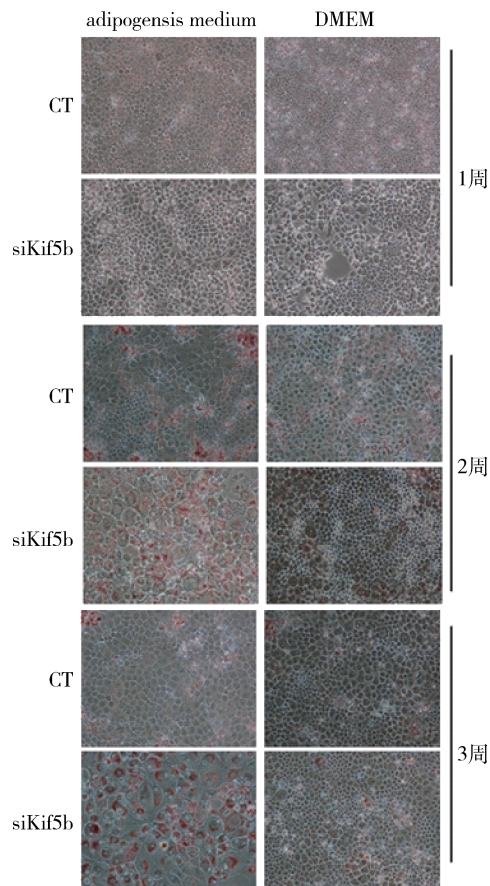


图 2 siKif5b - MDCK 细胞能够被诱导分化为脂肪细胞

达量通过 Western blot 法来评估 (图 4)。结果显示,Kif5b 在上皮细胞 MDCK 中的表达量显著高于间充质干细胞。

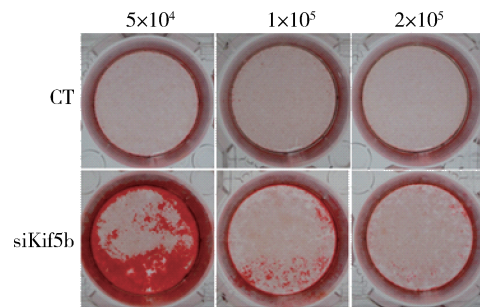


图 3 siKif5b - MDCK 细胞能够被诱导分化为成骨细胞

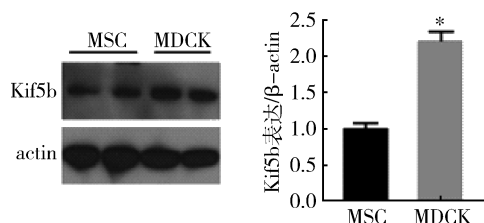


图 4 Kif5b 在上皮细胞 MDCK 中的表达量显著高于间充质干细胞
与 MSC 相比,* $P < 0.05$

讨 论

最近研究表明,肾脏特异性敲除 Kif3a 能够导致多囊肾的产生甚至引起肾衰竭。这一结果提示,上皮细胞极性的建立和维持离不开微管介导的高效有序的胞内运输。笔者前期研究发现,Kif5b 在成年小鼠肾脏的远曲小管和髓袢中表达,并且呈极性分布于上皮细胞的基底部(basolateral domain),表明 Kif5b 与肾脏上皮细胞的极性形成和维持紧密相关。

本研究通过设计构建靶向 Kif5b 基因的短发卡 RNA(shRNA)质粒载体,并转染犬肾上皮细胞株 MDCK,获得了 Kif5b 沉默的 MDCK 上皮细胞株。研究发现,Kif5b 沉默的细胞经历了细胞形态的改变,由鹅卵石状分布转化为成纤维细胞状分布。与对照组相比,转染 Kif5b-shRNA 显著抑制 Kif5b 的表达,同时 E-cadherin 的表达下降,N-cadherin 和 vimentin 的表达上升,细胞抵抗胰蛋白酶消化的能力降低。这一结果提示,在 MDCK 细胞中沉默 Kif5b 导致上皮细胞特性的消失,引起细胞去分化。进一步研究发现,沉默 Kif5b 的 MDCK 细胞能被分化为脂肪细胞和成骨细胞。此外,Kif5b 在 MDCK 细胞中的表达量显著高于小鼠间充质干细胞。

综上所述,本研究表明,沉默 Kif5b 诱导 MDCK 细胞经历上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition)过程,去分化为间充质干细胞样细胞,去分化的细胞能够被转分化为特化的脂肪细胞和成骨细胞。Kif5b 的表达量与细胞的分化程度呈正相关。

沉默 Kif5b 诱导 MDCK 细胞经历 EMT 的分子机制有待于进一步研究。笔者前期研究发现,Kif5b 能够与 E 钙黏蛋白(E-cadherin)和非肌球蛋白 II A(nonmuscle myosin II A, NMM II A)免疫共沉淀^[10]。钙黏蛋白是一种 Ca^{2+} 依赖的细胞黏着糖蛋白,对胚胎发育中的细胞识别、迁移和组织分化以及成体组织器官构成重要作用。上皮组织中的 E-钙黏蛋白(E-cadherin)是一种跨膜蛋白,其形成细胞间黏着连接,在细胞的极性形成和维持中发挥重要作用。E-钙黏蛋白的胞内结构域通过与 β -catenin- α -catenin 相互作用,从而与细胞内的微丝相连^[11]。在上皮细胞中,NMM II A 在细胞的基膜端与微丝相结合^[12]。研究表明,阻断 NMM II A 的活性,能够阻断微丝的重组,以及细胞间连接复合物的定位^[13]。在 MDCK 细胞中沉默 Kif5b 引起 EMT 转化,这一过程极有可能是通过沉默 Kif5b 引起 E-cadherin 和 NMMI-

IA 表达或者定位失活,引起细胞微丝、微管和细胞间连接的重组,从而诱发细胞内一系列蛋白表达和细胞结构的改变,最终导致细胞经历 EMT 去分化为间充质干细胞样细胞。

参考文献

- Hirokawa N, Noda Y, Tanakay *et al.* Kinesin superfamily motor proteins and intracellular transport[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(10): 682-696
- Vale RD, Reese TS, Sheetz MP. Identification of a novel force-generating protein, kinesin, involved in microtubule-based motility[J]. *Cell*, 1985, 42(1): 39-50
- Lafont F, Burkhardt JK, Simons K. Involvement of microtubule motors in basolateral and apical transport in kidney cells[J]. *Nature*, 1994, 372(6508): 801-803
- Cui J, Li X, Duan Z, *et al.* Analysis of Kif5b expression during mouse kidney development[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0126002
- Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(2): 131-142
- Acloque H, Adam 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
- Mani SA, Guo W, Liao MJ, *et al.* The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. *Cell*, 2008, 133(4): 704-715
- Morel AP, Lievre M, Thomas C, *et al.* Generation of breast cancer stem cells through epithelial mesenchymal transition[J]. *PLoS One*, 2008, 3(8): e2888
- Sleeman KE, Kendrick H, Ashworth A, *et al.* CD24 staining of mouse mammary gland cells defines luminal epithelial, myoepithelial/basal and non-epithelial cells[J]. *Breast Cancer Res*, 2006, 8(1): R7
- Al-hajj M, Wicha MS, Benito-hernandez A, *et al.* Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2003, 100(7): 3983-3988
- Battula VL, Evans KW, Hollier BG, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition-derived cells exhibit multilineage differentiation potential similar to mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells*, 2010, 28(8): 1435-1445
- Cui J, Jin G, Yu B, *et al.* Stable knockdown of Kif5b in MDCK cells leads to epithelial-mesenchymal transition[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 463(1-2): 123-129
- Meng W, Takeichi M. Adherens junction: molecular architecture and regulation[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(6): a002899
- Ivanov AI, Bachar M, Babbitt BA, *et al.* A unique role for nonmuscle myosin heavy chain IIA in regulation of epithelial apical junctions[J]. *PLoS One*, 2007, 2(7): e658
- Ivanov AI, McCall IC, Parkos CA, *et al.* Role for actin filament turnover and a myosin II motor in cytoskeleton-derived disassembly of the epithelial apical junctional complex[J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(6): 2639-2651

(收稿日期:2015-10-14)

(修回日期:2015-11-03)