

BÖLÜM 16

EPİTELYAL-MEZENKİMAL GEÇİŞ

Besra ÖZMEN YELKEN¹

GİRİŞ

Epitelyal mezenkimal geçiş (EMT), epitel hücrelerinin mezenkimal kök hücrelerin fenotipini edindiği bir süreç olup, gen ekspresyonundaki değişiklikler, hücre polaritesi ve bağlantılarının kaybı, motilite ve invaziv özellik kazanımı ile karakterizedir (1). EMT süreci, embriyonik morfogenez, doku fibrozisi, yara iyileşmesi, tümör hücre migrasyonu ve kanser hücrelerinin metastazı gibi birçok temel süreçte yer alır (2, 3).

EMT sırasında, E-kaderin, β -katenin gibi epitel hücre belirteçlerinin ekspresyonları azalırken, N-kaderin, vimentin, fibronektin gibi mezenkimal hücre belirteçlerinin ekspresyonlarında artış görülür. Böylece, hücre migrasyonu ve invazyon için gelişmiş bir yetenek kazanarak, kanser hücrelerinin metastatik özellikleri artar (4).

Bu derlemede EMT sürecinin embriyonik gelişme dönemi, inflamasyon ve yara iyileşmesi, metastatik süreçlerdeki önemi özetlenmeye çalışılmıştır. Kanser metastazına karşı tedavilerin geliştirilmesi için EMT'nin terapötik olarak hedeflenmesinin, kanser hücrelerinde invazyon ve metastazı engelleyebilecek mekanizmaların belirlenebilmesindeki önemi literatür araştırması yapılarak ilgili referanslar ile sunulmuştur.

1. EPİTELYAL-MEZENKİMAL GEÇİŞE GENEL BAKIŞ

Epitelyal mezenkimal geçiş (EMT), polarize epitel hücrelerin özelliklerini kaybederek daha yüksek motilite ve invaziv özelliklere sahip mezenkimal hücrelere dönüştüğü, çok önemli bir hücre programıdır (5). EMT sürecinde, her bir durum tipik olarak morfolojik özelliklere göre farklılaşır ve işlevlerini destekleyen belirli özelliklerle ilişkilendirilir.

Epitelyal hücreler, vücut kompozisyonunu korumak için gerekli olan hücre-hücre bağlantıları ve doku bütünlüğüne dayalı olarak; adherent bağlantılar, des-

¹ Dr. Öğr. Üyesi, İzmir Bakırçay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji AD., besra.yelken@bakircay.edu.tr

mozomlar, sıkı bağlantılar ve aralıklı bağlantılar ile hücrelerin bir arada tutulmasını sağlayarak, epitelyal bütünlüğü korumaya çalışırlar (6, 7). EMT sırasında hücre iskeletinde meydana gelen değişiklikler ile epitel hücrelerinde bulunan güçlü hücre-hücre bağlantıları ortadan kalkar ve apikal-bazal hücre polaritesi bozulur (8).

Epitel hücrelerinin aksine, mezenkimal hücreler ön-arka polarite gösterir ve çok nadiren sıkı hücre-hücre bağlantıları sergiler (9). Mezenkimal hücreler, epitel dokuları desteklemek için migrasyon ve invazyon ile ilişkilidir (6, 7).

EMT benzeri özellikler sergilemeye ek olarak, invaziv tümör hücreleri normal kök hücrelerde görülen özellikleri gösterir ve bu nedenle kanser kök hücreleri (CSC) olarak tanımlanır (10).

CD44 bir hücre yüzeyi glikoproteindir ve bir CSC belirteci olarak hücre migrasyonu ve adhezyonunda, tümör invazyonunda, prognozunda ve kanserlerin metastazında önemli bir rol oynar (11, 12).

EMT' nin metastatik kanser kök hücrelerinin (MCSC) bir alt kümesinde bulunduğu ve bu popülasyona tüm vücuda yayılma yeteneği kazandırdığı ve tedavi direncine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (13).

Hücre-hücre adhezyonu, çok hücreli organizmalarda hücrel ve doku morfogenezini tanımlayan temel bir biyolojik süreçtir (14). Hücreler arasındaki adhezyon ile hücre dışı matris (ECM) ile taşınan sinyal, normal doku homeostazı sırasında gen regülasyonu ile sıkı bir şekilde koordine edilir (15, 16). EMT sırasında polar epitel hücreleri adhezyonlarını kaybeder (17). Bu özellikler kanser hücrelerinin birincil dokudan ayrılma, ECM bileşenlerine ve diğer hücrelere bağlanma, lenf ve kan sistemlerine doğru migrasyon yeteneğini artırır. Hücre-hücre adhezyonunun bozulması, adhezyon aracılı sinyalleşmedeki değişiklikler ve hücre motilitesindeki artış, invaziv metastatik kanserin gelişimi sırasında gözlenen karakteristik adımlardır (18).

1.1. EMT Sınıflandırmaları

EMT hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda ortaya çıkar ve bu nedenle farklı biyolojik fonksiyonlara ve düzenleyici mekanizmalara göre sırasıyla morfogenez, inflamasyon ve karsinom ilerlemesi sırasında ortaya çıkan Tip I, II ve III gibi üç ana tipte sınıflandırılır (19).

Endoderm, ektoderm ve mezoderme yol açan embriyogenez sırasında meydana gelen değişiklikler 'Tip I EMT' olarak isimlendirilir. Embriyonik gelişim sürecinde epitel hücreler polaritelerini kaybederek mezenkimal özellikler kazanırlar (20). Hücreler, embriyogenez ve organogenezin erken evreleri boyunca büyüme

ve farklılaşması sırasında birkaç EMT ve MET (Mezenkimal-Epitelial Geçiş) turuna tabi tutulur (21).

Yara iyileşmesi, doku rejenerasyonu ve organ fibrozis süresince meydana gelen değişiklikler 'Tip II EMT' olarak adlandırılır. Bu tip, EMT inflamasyon ile ilişkilidir ve inflamasyon uyarılması kaybolduğunda sona erer; kalıcı inflamasyon durumunda, organ fibrozisine ve doku rekonstrüksiyonuna yol açabilir (22, 23).

Kanser gelişimi ve tümör metastazında önemli rol oynayan ve epitel hücrelerinin mezenkimal hücrelere dönüşümünü indükleyebilen EMT türü 'Tip III EMT' olarak tanımlanır (24, 25). Diğer EMT tiplerinde gözlemlenen kontrollü hareketin aksine, tümörögenездеki EMT agresif ve kontrolsüzdür. Hem EMT' nin hem de kanserde ters MET' in edinilmesi, metastatik yayılma geçiren tümör hücrelerinin göstergesidir ve kanser ilerlemesinin merkezindedir (26, 27).

1.2. EMT Özellikli Belirteçler

EMT, mezenkimal fenotipi üstlenen epitel hücrelerindeki çeşitli genlerin ekspresyon seviyelerini düzenleyen evrimsel olarak korunan bir süreçtir (28, 29). E-kaderin, Zona okludens 1 (ZO-1), klaudin, sitokeratin ve tip IV kollajen gibi epitel hücrelerde bulunan belirteçlerin ekspresyonlarının azalmasıyla, mezenkimal hücrelerde bu proteinlerin yerini vimentin, α -düz kas aktini (SMA), fibronektin, N-kaderin, tip I ve III kollajen gibi mezenkimal-spesifik faktörler alır ve bu mezenkimal hücre belirteçlerinin ekspresyonları artar (30).

E-kaderin, epitel hücrelerinin karakteristik bir belirteçidir (31). E-kaderin ifadesinin azalması, hücre iskeleti proteinlerinin yeniden şekillenmesini indükler ve hücreler arası adhezyonun azalmasına yol açar (32-34). E-kaderin/N-kaderin ekspresyonundaki değişiklikler, hücre invazivliğindeki artış ile pozitif olarak ilişkilidir (35).

1.2.1. EMT ile İndüklenen Sinyaller

EMT' nin kanser hücrelerindeki regülasyonu belirsizliğini korumaktadır. EMT sürecinin karmaşıklığı nedeniyle, tüm moleküler ve morfolojik değişiklikleri düzenlemek için epitel hücrelerinde özel transkripsiyon faktörleri ve sinyal yolları aktive edilir. Bu EMT ilişkili sinyal yolları, transforme büyüme faktörü beta (TGF- β), nükleer faktör kappa B (NFkB), wingless type (Wnt) ve Notch ailesindeki sinyal yollarını içerir. Bu sinyal yolları aktif hale geldiklerinde, genellikle diğer transkripsiyonel faktörlerle birlikte, EMT programını kontrol edebilen Snail ailesi çinko parmak transkripsiyonel faktörleri Snail, Slug, çinko parmak E-kutu bağlayıcı homeobox (ZEB) ve Twist gibi EMT ile ilgili transkripsiyon faktörleri

hedef alır. Snail, Slug ve ZEB1/2 dahil olmak üzere bir dizi EMT transkripsiyon faktörü (EMT-TF), transkripsiyonel baskı için doğrudan E-kaderin ve diğer epitelial genleri hedefler (36-40).

TGF- β , EMT' yi indükleyen en önemli sitokinler arasındadır. Çok işlevli bir sitokin olarak TGF- β , kanser hücrelerinin çoğalmasında, farklılaşmasında, migrasyonunda ve ayrıca kanser ilerlemesi ve kanser metastazında önemli bir rol oynar (41-43).

EMT' yi indükleyen başka bir sinyal yolağı NFkB' dir. NFkB, proliferasyon, apoptoz, migrasyon ve invazyon dahil olmak üzere onkojenik süreçlerin yanı sıra birçok normal hücre sel süreçte yer alan genlerin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Bu yolak, Snail, ZEB1 ve ZEB2 faktörlerini de kapsayan EMT indükleyicilerinin ekspresyonunu doğrudan aktive eder (44).

Wnt/ β -katenin sinyal yolağı, EMT' nin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar. E-kaderin kaybı bulunan EMT-TF ile yapılan çalışmalar, kanser kök hücresi özelliklerini oluşturmak ve sürdürmek için hücre adhezyon özelliklerindeki değişikliklerin gerekli olduğunu göstermektedir. Hem normal hücrelerde hem de CSC' lerinde WNT sinyalinin aktivasyonu ve hücre adhezyonundaki EMT ile ilişkili değişiklikler, β -katenin' in E-kaderini aktin hücre iskeletine bağladığı, adherent bağlantılardan yer değiştirmesini içerir (45, 46).

Notch sinyali, hücre proliferasyonu, farklılaşması, anjiyogenez, kök hücre özellikleri ve gelişiminin düzenlenmesi için iyi bilinen yüksek oranda korunmuş bir başka sinyal yoludur (47, 48).

Snail, çeşitli moleküler mekanizmalarda yer alan çinko parmak transkripsiyon faktörleri ailesidir. Bu aile Snail1 (Snail), Snail2 (Slug) ve Snail3 (Smuc) olmak üzere üç üyeden oluşur (49, 50). Bu ailenin en önemli üyelerinden biri, kanser hücresi migrasyonu ve metastazında EMT' nin indüklenmesinde önemli rolü olan Snail1' dir. Snail1, EMT' de yer alan bir anahtar gen olan E-kaderin üzerinde çoklu bağlanma bölgelerine sahip olan bir transkripsiyon faktörüdür. E-kaderin ekspresyon seviyesindeki değişiklikler, gelişmiş EMT ve metastaz ile yakından ilişkilidir.

Prostat kanserli hastalar üzerinde yapılan immünohistokimyasal çalışmalar, Snail1' in tümör oluşumunun ilk adımlarında yüksek oranda eksprese edildiğini göstermektedir (51).

Kolorektal, over ve meme kanseri dahil olmak üzere solid tümörler üzerinde yapılan araştırma ve klinik sonuçlar, Snail 1 ve Snail 2 gibi tipik EMT transkripsiyon faktörlerinin ekspresyon seviyelerinin arttığını ve bu sonuçların sağkalm

veya nüks açısından daha kötü bir prognoz ile pozitif ilişkili olduğunu göstermektedir (52-54).

Hücre dışı matris bileşenleri ile tümör hücresi etkileşimleri de EMT' yi indükleyebilir. Örneğin, tip I kollajen ile temas eden over ve prostat kanseri hücre hatları, EMT-TF' leri Snail ve Slug ifadelerini yukarı doğru düzenler (55).

Twist, EMT' deki ikinci etkili transkripsiyon faktörüdür. Klinik örnekler üzerinde yapılan çalışmalar, Twist 1' in yüksek ekspresyon seviyelerinin kanser hücrelerinin invazyonu ve migrasyonu ile yüksek oranda ilişkili olduğunu göstermektedir (56). Bu nedenle, artmış Twist-1 ifadesi EMT sürecini kolaylaştırır ve kanser hücrelerinde metastaza yol açar (57).

ZEB, EMT' nin düzenlenmesinde temel bir rol oynayan üçüncü ana transkripsiyon faktörü olarak bilinir. ZEB1 ve ZEB2, E-kaderin promotörünün E-kutu dizilerine bağlanarak E-kaderinin ekspresyon seviyesini sınırlar, böylece kanser hücrelerinde metastaz özelliklerin indüklenmesinde rol oynar (58). Ayrıca, ZEB1, hücre-hücre etkileşimi, sıkı bağlantılar, desmozomlar ve hücre polaritesinde yer alan diğer etkili hedef genlerin promotörüne bağlanarak epitel hücre özelliklerini azaltır ve metastazı artırır (59).

EMT, DNA metilasyonu, histon metilasyonu ve asetilasyonu gibi epigenetik mekanizmalar ve mikroRNA (miRNA) bağlanması ile de düzenlenir (60). EMT-TF' ler, epitelyal genleri kararlı bir şekilde bastırmak ve onların transkripsiyonunu önlemek için DNA metilasyonu ve histon modifikasyon mekanizmalarını kullanır. Epigenetik düzenleme, EMT' nin tersine çevrilebilirliği ve tümör hücrelerinin farklı iç ve dış uyaranlara tepki verme esnekliği nedeniyle özellikle önemlidir. Hem epitelyal hem de mezenkimal transkriptler alternatif splicing işlemine uğrar ve miRNA' lar ve uzun kodlanmayan RNA' lar (lncRNA) ile düzenlenir. Ubikitinasyon, asetilasyon ve fosforilasyon gibi transkripsiyon sonrası modifikasyonlar, epitelyal ve mezenkimal proteinlerin stabilitesi ve degradasyonu arasındaki dengeyi belirler (61).

EMT-TF' ler ayrıca, Snail1' i baskılayan miR-34 ve ZEB1' i baskılayan miR-200 ailesi de dahil olmak üzere miRNA' lar tarafından negatif olarak düzenlenir (62, 63). Buna karşılık, Twist1 veya Snail1' in nakavt edildiği pankreas tümörlü bir fare modelinde veya Zeb1 ve Zeb2' yi hedefleyen ve EMT' yi inhibe eden miR200' ün aşırı ekspresyonu olan bir fare meme tümörü modelinde metastaz varlığı nedeniyle EMT' nin metastaz için vazgeçilmez olduğu öne sürülmüştür (64, 65). EMT-TF' ler ve onların antagonistik miRNA yayılımı arasındaki denge, bir hücrenin EMT spektrumunda nereye düştüğünün yanı sıra plastisite ve me-

tastaz potansiyelinin belirlenmesinde kritik bir rol oynar (66). EMT' ye maruz kalan bir hücre, migrasyon yapabilmek için gerekli morfolojik ve davranışsal dönüşümleri teşvik etmek için mezenkimal genleri de aktive etmelidir.

Son veriler, miRNA' lar, lncRNA' lar ve EMT transkripsiyon faktörleri arasındaki ilişkinin EMT düzenlemesinde çok önemli bir olay olduğuna dair kanıt sağlar. Ayrıca miRNA' lar, epitelden mezenkimal fenotipe değişiklikleri indükleyen hücresel temas, adhezyon ve hücre iskeleti proteinlerinden sorumlu proteinlerin seviyesini de etkiler (67).

1.3. Kanser Progresyonunda EMT

Kanser ilerlemesi sırasında hücresel plastisite, epitelyal ve mezenkimal fenotipler, EMT ve tersi MET arasındaki geçiştir. EMT, epitel hücrelerinin komşu hücrelere olan bağlantılarını gevşettiği, hücre polaritesindeki değişiklikleri içeren ve kanser hücrelerinin artan motilite gösterdiği, invazyon metastaz kaskadının ilk adımını oluşturan dramatik hücresel değişiklikleri içerir (68,69).

Yunanca '*meta*' sonraki ve '*staz*' yerleştirme kelimelerinden köken alan metastaz kelimesi 'yer değiştirme' anlamına gelmektedir (70). Bu terim, tümör hücrelerinin, vücuttaki birincil bölgeden vücudun farklı bölgelerine hücre migrasyonu ve kansere bağlı ölümün ana nedeni olan yeni tümör odaklarının oluşumunu ifade eder (71).

EMT, mezenkimal belirteç proteinlerin ekspresyonunu indükler ve hem ECM bağlanmayı hem de iğ şeklindeki hücre morfolojisi ve aktin stres liflerinin yeniden düzenlenmesi gibi mezenkimal özelliklerin edinilmesini kolaylaştırır. Böylece bireysel olarak migrasyon ve bazal membranları ve kan/lenfatik damar duvarlarını invazyon yeteneği kazanır. İntravazasyondan sonra, EMT'ye maruz kalan hücreler, dolaşımdaki tümör hücreleri (CTC) olarak kan dolaşımında hayatta kalır ve sonunda uzak organlara ekstrasvazyon yapar (72).

Motilite özelliklerinin artırılmasının yanı sıra, EMTye maruz kalan kanser hücreleri, antikanser ilaçlara ve çeşitli streslere direnç, yaşlanma ve anoikisin inhibisyonu ve immünosupresyon ve CSC benzeri özelliklerin kazanılması dahil olmak üzere daha agresif fenotipler sergiler (73, 74).

Yapılan çalışmalarda, bazı meme, pankreas, böbrek, akciğer, kolorektal ve over kanseri hücre hatlarında, meme, kolorektal, baş ve boyun, akciğer ve pankreas kanserleri gibi insan birincil kanserlerinde ve rahim, böbrek, akciğer, meme, yemek borusu ve cilt kanserleri gibi karsinosarkomlarda epitelyal ve mezenki-

mal belirteçlerin birlikte ekspresyonlarının olduğu ve bu EMT hibrit fenotipin (epitelyal ve mezenkimal durumlar arasındaki ara durumlar), artan invazyon ve migrasyon ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (75).

SONUÇ

Kanser hücrelerinde metastaz, pek çok biyokimyasal ve moleküler faktör tarafından yönlendirilen kompleks bir süreçtir ve kanser tedavilerinde yüksek oranda sınırlayıcı olup kanserden ölümlerin %90' ından sorumludur. Kanser tedavisi için uygun bir terapötik hedef seçmek için metastazın moleküler mekanizmasını anlamak önemlidir.

EMT karsinogenezin en yaygın ölümcül sonucu olan malign progresyon ve metastaz için kritik bir erken adımdır. EMT sürecinde yer alan sinyal yolları, metastaz tedavisinde uygun terapötik hedeflerdir. Bu yüzden, EMT, erken evre hastalarda tümör hücresi yayılmasını önlemek veya ileri evrelerde mevcut metastatik hücreleri yok etmek için hedeflenebilir.

EMT sürecinin tam olarak anlaşılması ve metastaz sürecindeki altta yatan mekanizmaların aydınlatılması, kanser metastazının önlenmesine yönelik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ve hastanın yaşam süresinin artırılması açısından önemlidir. Kanser hastalarında tümör progresyonu, metastazı ve tedaviye direnci önlemek için yeni terapötik stratejiler geliştirmek için EMT' yi kontrol eden mekanizmaların temel anlayışı kullanılmalıdır.

KAYNAKÇA

1. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009; 139(5):871-890.
2. Lo UG, Lee CF, Lee MS, et al. The Role and Mechanism of Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Prostate Cancer Progression. *Int J Mol Sci*. 2017 Sep 30;18(10):2079.
3. Škovierová H, Okajčková T, Strnádel J, et al. Molecular regulation of epithelial-to-mesenchymal transition in tumorigenesis (Review). *Int J Mol Med*. 2018 Mar;41(3):1187-1200.
4. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest*. 2003 Dec;112(12):1776-84.
5. Nieto MA, Huang RY, Jackson RA, et al. EMT: 2016. *Cell*. 2016 Jun 30;166(1):21-45.
6. Hay ED. The mesenchymal cell, its role in the embryo, and the remarkable signaling mechanisms that create it. *Dev Dyn*. 2005 Jul;233(3):706-20.
7. Shook D, Keller R. Mechanisms, mechanics and function of epithelial-mesenchymal transitions in early development. *Mech Dev*. 2003 Nov;120(11):1351-83.
8. Acloque H, Adams MS, Fishwick K, et al. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest*. 2009 Jun;119(6):1438-49.
9. Nelson WJ. Remodeling epithelial cell organization: transitions between front-rear and apical-basal polarity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009 Jul;1(1):a000513.
10. Polyak K, Weinberg RA: Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer*. 2009; 9(4): 265-73.

11. Oliveira LR, Castilho-Fernandes A, Oliveira-Costa JP, et al. CD44+/CD133+ immunophenotype and matrix metalloproteinase-9: Influence on prognosis in early-stage oral squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2014; 36: 1718–1726.
12. Chen C, Zhao S, Karnad A, et al. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *Journal of Hematology & Oncology*. 2018; 11: 64.
13. Singh M, Yelle N, Venugopal C, et al. EMT: Mechanisms and therapeutic implications. *Pharmacol Ther*. 2018 Feb; 182:80-94.
14. Wickström SA, Niessen CM: Cell adhesion and mechanics as drivers of tissue organization and differentiation: local cues for large scale organization. *Curr Opin Cell Biol*. 2018; 54: 89–97.
15. Conacci-Sorrell M, Zhurinsky J, Ben-Zeev A. The cadherin-catenin adhesion system in signaling and cancer. *J Clin Invest*. 2002 Apr;109(8):987-91.
16. Clément R, Dehapiot B, Collinet C, et al. Viscoelastic Dissipation Stabilizes Cell Shape Changes during Tissue Morphogenesis. *Curr Biol*. 2017; 27(20): 3132–3142.e4.
17. Schock F, Perrimon N. Molecular mechanisms of epithelial morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2002; 18:463-93.
18. Nieto MA. Epithelial plasticity: a common theme in embryonic and cancer cells. *Science*. 2013 Nov 8;342(6159):1234850.
19. Kim DH, Xing T, Yang Z, et al. Epithelial Mesenchymal Transition in Embryonic Development, Tissue Repair and Cancer: A Comprehensive Overview. *J Clin Med*. 2017 Dec 22;7(1):1.
20. Jayachandran J, Srinivasan H, Mani KP. Molecular mechanism involved in epithelial to mesenchymal transition. *Arch Biochem Biophys*. 2021 Oct 15; 710:108984.
21. Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell*. 2008 Jun;14(6):818-29.
22. Stone RC, Pastar I, Ojeh N, et al. Epithelial-mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis. *Cell Tissue Res*. 2016 Sep;365(3):495-506.
23. Pinzani M. Epithelial-mesenchymal transition in chronic liver disease: fibrogenesis or escape from death? *J Hepatol*. 2011 Aug;55(2):459-65.
24. Araki K, Shimura T, Suzuki H, et al. E/N-cadherin switch mediates cancer progression via TGF- β -induced epithelial-to-mesenchymal transition in extrahepatic cholangiocarcinoma. *Br J Cancer*. 2011 Dec 6;105(12):1885-93.
25. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest*. 2009 Jun;119(6):1420-8. doi: 10.1172/JCI39104. Erratum in: *J Clin Invest*. 2010 May 3;120(5):1786.
26. Kang X, Chen W, Kim RH, et al. Regulation of the hTERT promoter activity by MSH2, the hnRNPs K and D, and GRHL2 in human oral squamous cell carcinoma cells. *Oncogene*. 2009 Jan 29;28(4):565-74.
27. Lee JM, Dedhar S, Kalluri R, et al. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J Cell Biol*. 2006 Mar 27;172(7):973-81.
28. Nakaya Y, Sheng G. Epithelial to mesenchymal transition during gastrulation: an embryological view. *Dev Growth Differ*. 2008 Dec;50(9):755-66.
29. Qin Q, Xu Y, He T, et al. Normal and disease-related biological functions of Twist1 and underlying molecular mechanisms. *Cell Res*. 2012 Jan;22(1):90-106.
30. Kovacic JC, Mercader N, Torres M, et al. Epithelial-to-mesenchymal and endothelial-to-mesenchymal transition: from cardiovascular development to disease. *Circulation*. 2012 Apr 10;125(14):1795-808.
31. Greenburg G, Hay ED. Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells. *J Cell Biol*. 1982 Oct;95(1):333-9.
32. Siemens H, Jackstadt R, Hünten S, et al. miR-34 and SNAIL form a double-negative feedback loop to regulate epithelial-mesenchymal transitions. *Cell Cycle*. 2011 Dec 15;10(24):4256-71.
33. Liu YN, Abou-Kheir W, Yin JJ, et al. Critical and reciprocal regulation of KLF4 and SLUG in transforming growth factor β -initiated prostate cancer epithelial-mesenchymal transition. *Mol Cell Biol*. 2012 Mar;32(5):941-53.
34. Wu KJ, Yang MH. Epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness: the Twist1-Bmi1 connection. *Biosci Rep* 2011; 31:449-55.

35. Derksen PW, Liu X, Saridin F, et al. Somatic inactivation of E-cadherin and p53 in mice leads to metastatic lobular mammary carcinoma through induction of anoikis resistance and angiogenesis. *Cancer Cell*. 2006 Nov;10(5):437-49.
36. Heerboth S, Housman G, Leary M, et al. EMT and tumor metastasis. *Clin Transl Med*. 2015 Feb 26; 4:6.
37. Yang J, Mani SA, Donaher JL, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell*. 2004 Jun 25;117(7):927-39.
38. Cano A, Pérez-Moreno MA, Rodrigo I, et al. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol*. 2000 Feb;2(2):76-83.
39. Comijn J, Berx G, Vermassen P, et al. The two-handed E box binding zinc finger protein SIP1 downregulates E-cadherin and induces invasion. *Mol Cell*. 2001 Jun;7(6):1267-78.
40. Bolós V, Peinado H, Pérez-Moreno MA, et al. 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 Feb 1;116(Pt 3):499-511.
41. Chruscik A, Gopalan V, Lam A. The clinical and biological roles of transforming growth factor beta in colon cancer stem cells: A systematic review. *European Journal of Cell Biology*. 2017; 97: 15–22.
42. Iamaroon A, Pattamapun K, Piboonniyom SO. Aberrant expression of Smad4, a TGF-beta signaling molecule, in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Sci*. 2006; 48: 105–109.
43. Richter P, Umbreit C, Franz M, et al. EGF/TGFβ1 co-stimulation of oral squamous cell carcinoma cells causes an epithelial-mesenchymal transition cell phenotype expressing laminin 332. *J Oral Pathol Med*. 2011 Jan;40(1):46-54.
44. Lehman HL, Kidacki M, Warrick JI, et al. NFκBhyperactivation causes invasion of esophageal squamous cell carcinoma with EGFR overexpression and p120-catenin down-regulation. *Oncotarget*. 2018; 9:11180–11196.
45. Pattabiraman DR, Weinberg RA. Targeting the Epithelial-to-Mesenchymal Transition: The Case for Differentiation-Based Therapy. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2016; 81:11-19.
46. Clevers H, Loh KM, Nusse R: Stem cell signaling. An integral program for tissue renewal and regeneration: Wnt signaling and stem cell control. *Science*. 2014; 346(6205): 1248012.
47. Fernandez-Valdivia R., Takeuchi H., Samarghandi A., et al. Regulation of mammalian notch signaling and embryonic development by the protein o-glucosyltransferase rumi. *Development*. 2011; 138:1925–1934.
48. Fischer A., Schumacher N., Maier M., et al. The notch target genes hey1 and hey2 are required for embryonic vascular development. *Genes Dev*. 2004; 18:901–911.
49. Wang Y, Shi J, Chai K, et al. The Role of Snail in EMT and Tumorigenesis. *Curr Cancer Drug Targets*. 2013 Nov;13(9):963-972.
50. Ganesan R, Mallets E, Gomez-Cambronero J. The transcription factors Slug (SNAI2) and Snail (SNAI1) regulate phospholipase D (PLD) promoter in opposite ways towards cancer cell invasion. *Mol Oncol*. 2016 May; 10(5):663-76.
51. S Heebøll S, Borre M, Ottosen PD, et al. Snail1 is over-expressed in prostate cancer. *APMIS*. 2009 Mar;117(3):196-204.
52. Jouppila-Mättö A, Tuhkanen H, Soini Y, et al. Transcription factor snail1 expression and poor survival in pharyngeal squamous cell carcinoma. *Histol Histopathol*. 2011 Apr;26(4):443-9.
53. Francí C, Gallén M, Alameda F, et al. Snail1 protein in the stroma as a new putative prognosis marker for colon tumours. *PLoS One*. 2009;4(5): e5595.
54. Bièche I, Lerebours F, Tozlu S, et al. Molecular profiling of inflammatory breast cancer: identification of a poor-prognosis gene expression signature. *Clin Cancer Res*. 2004 Oct 15;10(20):6789-95.
55. Cheng, J.C., and P.C.K. Leung. Type I collagen down-regulates E-cadherin expression by increasing PI3KCA in cancer cells. *Cancer Lett*. 2011; 304:107–116.

56. Barnes RM, Firulli AB. A twist of insight-the role of Twist-family bHLH factors in development. *Int J Dev Biol.* 2009;53(7):909-24.
57. Gajula RP, Chettiar ST, Williams RD, et al. The twist box domain is required for Twist1-induced prostate cancer metastasis. *Mol Cancer Res.* 2013 Nov;11(11):1387-400.
58. Zhu QQ, Ma C, Wang Q, et al. The role of TWIST1 in epithelial-mesenchymal transition and cancers. *Tumour Biol.* 2016 Jan;37(1):185-97.
59. Ang L, Zheng L, Wang J, et al. Expression of and correlation between BCL6 and ZEB family members in patients with breast cancer. *Exp Ther Med.* 2017 Nov;14(5):3985-3992.
60. Sánchez-Tilló E, Siles L, de Barrios O, et al. Expanding roles of ZEB factors in tumorigenesis and tumor progression. *Am J Cancer Res.* 2011;1(7):897-912.
61. Heerboth S, Housman G, Leary M et al. EMT and tumor metastasis. *Clin Transl Med.* 2015 Feb 26; 4:6.
62. Aiello NM, Kang Y. Context-dependent EMT programs in cancer metastasis. *J Exp Med.* 2019 May 6;216(5):1016-1026.
63. C Bracken CP, Gregory PA, Kolesnikoff N, et al. A double-negative feedback loop between ZEB1-SIP1 and the microRNA-200 family regulates epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res.* 2008 Oct 1;68(19):7846-54.
64. Korpál M, Lee ES, Hu G, et al. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2. *J Biol Chem.* 2008 May 30;283(22):14910-4.
65. Zheng X, Carstens JL, Kim J, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is dispensable for metastasis but induces chemoresistance in pancreatic cancer. *Nature.* 2015 Nov 26;527(7579):525-530.
66. Fischer KR, Durrans A, Lee S, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is not required for lung metastasis but contributes to chemoresistance. *Nature.* 2015 Nov 26;527(7579):472-6.
67. Celià-Terrassa T, Bastian C, Liu DD, et al. Hysteresis control of epithelial-mesenchymal transition dynamics conveys a distinct program with enhanced metastatic ability. *Nat Commun.* 2018 Nov 27;9(1):5005.
68. Geiger TR, Peeper DS. Metastasis mechanisms. *Biochim Biophys Acta.* 2009 Dec;1796(2):293-308.
69. Scheel C, Weinberg RA. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: concepts and molecular links. *Semin Cancer Biol.* 2012 Oct;22(5-6):396-403.
70. Baldawa P, Shirol P, Alur J, et al. Metastasis: To and fro. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2017 Sep-Dec;21(3):463-464.
71. Steeg PS. Targeting metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2016 Apr;16(4):201-18.
72. Jie XX, Zhang XY, Xu CJ. Epithelial-to-mesenchymal transition, circulating tumor cells and cancer metastasis: Mechanisms and clinical applications. *Oncotarget.* 2017 May 26;8(46):81558-81571.
73. Nieto MA. Context-specific roles of EMT programmes in cancer cell dissemination. *Nat Cell Biol.* 2017 Apr 27;19(5):416-418.
74. Furuya S, Endo K, Takahashi A, et al. Snail suppresses cellular senescence and promotes fibroblast-led cancer cell invasion. *FEBS Open Bio.* 2017 Sep 11;7(10):1586-1597.
75. Pastushenko I, Blanpain C. EMT Transition States during Tumor Progression and Metastasis. *Trends in Cell Biology.* 2019 March; 29(3).