

基底细胞样乳腺癌相关信号通路研究进展

顾 蕾 应明真 王雅杰

根据基因微阵列分析,乳腺癌的分子分型分为 5 种亚型: Luminal A 型、Luminal B 型、正常乳腺样(normal-like)型、Her-2/neu 基因过表达型以及基底细胞样乳腺癌,其中,基底细胞样乳腺癌生物学行为复杂,对传统的治疗手段无效,与其他亚型乳腺癌相比预后更差^[1]。与使用抗 HER2 靶向治疗的 HER2 阳性乳腺癌相反, BLBCs 尚无有效的靶向治疗药物^[2],目前对于 BLBCs 的发病机制仍知之甚少^[3]。基因组/转录蛋白组学分析对于阐明 BLBCs 的分子病理学、发现药物靶点具有十分重要的意义^[4]。

一、Notch 通路

Notch 信号通路是生物进化过程中相当保守的信号途径,在生物体内广泛存在,相邻细胞间通过 Notch 受体与配体的相互作用转导细胞信号,在细胞的增殖、凋亡和分化中发挥重要作用,影响多个器官的发育及功能。乳腺癌发生过程中干/祖细胞是恶性转化的起点,Notch 作为一种跨膜受体蛋白表达在多种干/祖细胞的表面,在乳腺癌细胞的生长分化起重要作用。完整的 Notch 信号通路由 Notch 受体、Notch 配体、细胞内效应分子 CSL 蛋白和其他相关分子等组成^[5]。目前在哺乳动物中发现有 4 种 Notch 受体(Notch1-4)以及 5 种配体,分别命名为 Delta-like-1、Delta-like-3、Delta-like-4 和 Jagged1、Jagged2(JAG1、2)。目前公认的 Notch 信号通路的激活方式为“三步蛋白裂解法”。在 3 次蛋白水解后,Notch 胞内区的 ICN(Notch 的活化形式)从细胞膜上释放出来,可不经任何第二信使直接入核,通过其 RAM 结构域与 DNA 结合蛋白 CSL 相互作用,调节下游转录因子的表达。

花本林等^[6]对乳腺不同阶段病变中 Notch1 蛋白

mRNA 的表达水平进行分析表明,Notch1 蛋白与乳腺癌的发生发展过程有关。Notch2 位于 1p11.2 染色体上,参与细胞增殖分化及凋亡的调控^[5]。Hirose 等^[7]的研究显示 Her-2(-)乳腺癌与 Notch3 的高表达有显著的相关性,表明 Notch3 基因受乳腺癌相关激素的调节。Notch4 基因位于 6p21.3, MHC II、III 区交界处,主要在胚胎期发挥作用,决定细胞分化,从而参与乳腺细胞向上皮细胞分化的过程。

不同于其他类型,基底细胞样乳腺癌常表达表皮生长因子受体(EGFR, HER1), HER 家族 4 个成员之一。临床上基底细胞样乳腺癌对常规化疗不敏感,内分泌治疗效果不佳,缺乏有效的靶向治疗。而能促进细胞存活的 Notch 途径,在 BLBCs 中经常被激活,且能被 γ -分泌酶所抑制。2010 年 Dong 等^[8]利用大鼠基底细胞样乳腺癌模型,观察联合抑制 Notch-EGFR 对比单独阻断 EGFR 或 Notch 通路的致死性。两种途径中的任意一种单独被阻断时不能导致细胞死亡,同时阻断导致增殖急剧下降和大量细胞凋亡。表明 EGFR 通路对于乳腺癌来说并非可有可无,当缺乏 EGFR 活性时,Notch 途径可作为补偿,成为细胞增殖和存活的必要条件。因此,Notch 信号是 BLBC 中 EGFR 抑制剂耐药的一个潜在原因。抑制联合通路更显著有效的抑制了肿瘤的生长。Notch 信号通路的激活可以促进 EGFR 抑制剂耐药。从而为 BLBCs 提供了一种新的治疗策略。

二、PI₃K/PTEN/AKT 通路

磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI₃K)-AKT(v-AKT murine thymoma viral oncogene homolog)信号转导途径是细胞内重要的信号转导通路,具有许多细胞调节功能。这条通路某些成分的突变所导致的功能性获得或功能性缺失能够引起细胞恶性转化,因此该通路不仅调节肿瘤细胞的增殖和存活,与肿瘤的侵袭转移行为也密切相关。既往很多研究表明,PI₃K-AKT 信号传导途径的活化可能是乳腺组织中癌基因发生激活,进而引起细胞恶性转化的先决条件。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81072175, 81102010, 81372854);上海市科委基金资助项目(06DZ19505, 114119a7500, 13NM1401504);上海市重点学科建设项目(B905)

作者单位:200433 上海,第二军医大学附属长海医院肿瘤科

通讯作者:王雅杰,教授,博士生导师,电子信箱:yajiewa0459@163.com

在某些由生长因子受体或整合素介导通路的细胞外信号的应答过程中,可以观察到 PI_3K 的活化。与 HER2 阳性乳腺癌相比较,基底细胞样乳腺癌中 PI_3K 通路相关蛋白的表达是上调的^[9]。三磷酸磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol triphosphate, PIP_3) 在肿瘤的发生中是十分重要的第二信使,特别是在激活 AKT 的途径中,AKT 通过它的 plekstrin 同源结构域与膜相关的 PIP_3 结合。当然 PIP_3 还与一些细胞事件(如生存、增殖、细胞运动和侵袭)中的信号分子的激活有关。 PIP_3 由下游细胞外信号激活,磷酸化磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸,生成 PIP_3 。肿瘤抑制基因人 10 号染色体上缺失的磷酸酶和张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN) 蛋白催化逆向的反应,从而降低了 PIP_3 的表达数量,抑制生长及存活信号,并且抑制肿瘤形成^[10]。在人类实体肿瘤(包括乳腺癌)中, Akt1 或 $PIK3CA$ 的突变,HER2 过表达及 PTEN 缺失或突变,常引起 PI_3K 信号通路的表达下调。

Marty 等^[11]通过两种高度增殖的乳腺癌亚型(BLBCs 和 Her2 阳性乳腺癌)中磷酸化蛋白的对比研究,发现 BLBCs 中 PI_3K 激活的程度较高,原因是上调了 Akt 和 mTOR 的活性。反相蛋白质阵列 (Reverse phase protein array, RPPA) 分析表明,与 HER2 阳性乳腺癌相比,BLBCs 中 PTEN 的表达明显减少 ($P=0.002$),且在 mRNA 水平更进一步证实了上述结论 ($P=0.0002$)。BLBCs 中 PTEN 表达较低与 PTEN DNA 拷贝数缺失有关。BLBCs 中 Akt 的活性依赖于 PTEN 表达,为阐明 BLBCs 的发病分子机制提供了线索,并且暗示着 PTEN 依赖性 Akt 信号通路的活化可以作为预后较差 BLBCs 的一个潜在治疗靶点。

同样,Elena Lo'pez - Knowles 等^[12]进行了一项有关 PI_3K 通路关键调节因子的突变、拷贝数和表达分析的汇总研究,研究纳入了 292 例治疗结果已知的浸润性乳腺癌患者。该组研究制定的指标为 $PIK3CA$ 突变 (12/168, 即 7%), $PIK3CA$ 拷贝数增加 (28/209, 即 14%), PTEN 缺失 (73/258, 即 28%) 和 AKT 的活化 (62/258, 即 24%)。研究得出 72% (139/193) 的原发性乳腺癌至少有上述一个指标发生变化,并且证实: PI_3K 通路活化与基底细胞样表型有显著联系 ($P=0.010$)。这与先前 Marty 等^[11]的研究结果一致,研究表明 PTEN 突变及 PI_3K 通路活化与基底细胞样乳腺癌表型有关。 PI_3K 通路可作为基底细胞样乳腺癌非常有吸引力的潜在治疗靶点。

三、Golgi/SPCA1/IGF1R 通路

钙信号是一个关键的通路调节因子,对于肿瘤细胞增殖和凋亡至关重要。既往研究多针对为肿瘤细胞中的钙稳态,而目前主要集中在胞质内游离钙水平变化的调节。

Grice 等^[13]收集了 295 例原发乳腺癌患者,利用基因微阵列芯片分析得出,与其他类型乳腺癌相比, SPCA1 (secretory pathway calcium ATPase 1) 水平在基底样亚型中的表达明显增加,且该两者的关系随着 SPCA1 水平增高而更加紧密,除此之外, SPCA1 的表达也与肿瘤分级有关。进一步研究其两者的关系,观察 SPCA1 siRNA 处理的 MDA - MB - 231 细胞,发现 SPCA1 mRNA 的数量明显减少,经双因素方差分析,与 siNT (non - targeting siRNA) 相比, $P < 0.05$ 。这种抑制作用一直维持到处理后 96h,且在 72h 时最为显著,达到了基因沉默。实验为了确保其他 p 型钙 ATP 酶中没有发生代偿性改变,同样的方法观察了 SPCA1 siRNA 对胞质膜 ATP 酶 (plasma membrane ATPase, PMCA) 及肌质/内质网钙 ATP 酶 (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} - ATPase, SERCA2) 的影响,发现在这两者中均没有显著改变。

因此,MDA - MB - 231 细胞中 SPCA1 抑制剂对细胞增殖和三维细胞培养形态产生了显著的影响,但并不改变内质网应激诱导或总体钙信号改变的敏感度。MDA - MB - 231 细胞中 SPCA1 抑制剂的作用存在于分泌途径中钙依赖性酶的调节改变,例如蛋白原转化酶。SPCA1 抑制剂通过显著降低功能性 IGF1R β 的水平、聚集惰性跨高尔基网的 IGF1R 前体,从而对胰岛素样生长因受体 (insulin - like growth factor 1 receptor, IGF1R) 的处理产生显著影响。Grice 等^[13]的研究第 1 次确定了 SPCA1 与乳腺癌有关,而基底细胞样乳腺癌具有高 SPCA1 表达。同时 SPCA1 抑制剂能够降低基底细胞样乳腺癌细胞株 MDA - MB - 231 的增殖。众所周知,细胞中钙稳态的调控十分精确,但在肿瘤细胞中,由于下游调节因子的影响,钙稳态会逐渐发生变化^[14]。当一些钙转运蛋白(例如通道或泵)改变时,钙稳态会发生改变,这些转运蛋白在癌症中的表达可能上调也可能为下调。这些钙转运体的表达变化可能调节胞质内总钙水平和(或)由于他们的位置变化可能会改变钙离子水平,特别是在细胞内钙库,如高尔基体中^[15]。在高尔基体内部,存在着钙调节酶(如在肿瘤发生过程中,已被证实作为“主开关”的前蛋白转化酶)和其底物为

IGF1R 的酶类, IGF1R 是一个业已证实的在流行病学、临床及实验上都与乳腺癌相关的蛋白^[16]。因此对于钙依赖性前蛋白转化酶调节因子(如高尔基体管腔钙水平的调节因子)的识别,将有望成为基底细胞样乳腺癌的一种重要治疗手段。

四、TGF- β /Smad 通路

转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)是一种多功能细胞生长因子,是乳腺癌调控机制中的一个重要因子,且肿瘤可以逆转其强有力的生长抑制作用。普遍认为,TGF- β 在肿瘤早期发挥抑制作用,但随着肿瘤的进展,抑癌基因的失活、原癌基因的突变和染色体的改变,可促使 TGF- β 从抑制肿瘤生长转变为促进肿瘤的运动、侵袭和转移。与 TGF- β 的这种转变相一致的是,在绝大多数乳腺癌,包括其转移灶中,核磷酸化的 Smad2 的表达均与之呈正相关,提示 TGF- β 通路中的一条重要途径是 Smad 通路^[17]。TGF- β 信号通路主要由 I 型受体(ALK5)、II 型受体、Smad 分子等组成。TGF- β 刺激细胞后,首先与 II 型受体结合,II 型受体激活 I 型受体,激活的 I 型受体磷酸化下游的 Smad 分子,受体激活型 Smad3 和 Smad4 结合入核调节下游靶基因的转录^[18]。

Ehata 等^[19]用 TGF- β 1 型受体激酶抑制剂(Ki26894)治疗腹腔注射了高亲骨性人 MDA-MB-231 乳腺癌细胞的大鼠,可降低其骨转移发生、延长生存期。同样,Korpál 等^[20]也报道了 LY2106791(即 TGF- β 1、2 型受体激酶抑制剂)能抑制早期骨转移。

Ganapathy 等^[21]通过体内外试验,在易发生骨(SCP2TR, SCP25TR, 2860TR, 3847TR)肺(4175TR, 4173)转移的基底样 MDA-MB-231 细胞亚系中观察到,利用 1D11 抗体的活化性、TGF- β 的中和作用及利用双受体激酶抑制剂(LY2109761)的 TGF- β 受体激酶的抑制作用,都能显著的抑制其骨肺转移,并且这两种机制的抑制程度相似。除了以自发的方式抑制肿瘤细胞转移,TGF- β 拮抗剂抑制肺转移相关的血管生成、减少破骨细胞数目及抑制溶骨性骨转移活性。总之,这些研究结果支持了 TGF- β 在基底细胞样乳腺癌骨肺中起重要作用这一观点,并且抑制 TGF- β 信号通路产生的治疗作用与转移细胞的组织倾向性无关。靶向 TGF- β 信号通路有望成为治疗转移性基底样乳腺的新型治疗手段。

五、Redox/Fyn/c-Cbl 通路

正常 redox/Fyn/c-Cbl(RFC)通路的功能是将

微量增加的氧化状态转化为 c-Cbl 靶蛋白的增强降解, BLBC 细胞通过 Cdc42 来抑制 redox/Fyn/c-Cbl(RFC)通路的功能。Chen 等^[22]在体外试验中均证实了 Cdc42 抑制剂使 RFC 途径功能恢复,并且可使微量(μ m)的他莫西芬(TAM)浓度。该浓度在许多肿瘤类型试验中使用的促氧化效应得以利用,从而抑制分化,减少体外试验中 BLBC 细胞死亡,通过雌激素受体- α -非依赖机制来增加体内试验中 TAM 的敏感度。此外,Cdc 敲除也能抑制体外试验中微球体的产生,在体内试验中抑制肿瘤生长,表明这条通路在肿瘤启动细胞(tumour initiating cell, TIC)功能中有着极其重要的作用。这些发现揭示了肿瘤细胞新的调控通路,为攻击 BLBC 中 TIC 和非-TIC 部分提供了新方法,使得 TAM 治疗的敏感度增加。

六、展 望

随着对基底细胞样乳腺癌相关信号转导通路研究的不断深入,人们逐渐认识到多种信号转导通路可能存在共同作用,促成基底细胞样乳腺癌复杂的发病和耐药机制。目前的研究仅仅停留在体外分子实验及动物实验阶段,其有限的实验结果仍需经临床大样本人群的进一步验证。深入探究基底细胞样乳腺癌的分子机制对于发现肿瘤细胞的新靶点、开发新的分子靶向药物、提高现有治疗效果、预防肿瘤早期复发具有十分重要的意义。

参考文献

- Mythili S, Denise A. Updates in the treatment of basal/triple-negative breast cancer[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2013, 25(1): 40-48
- José B, Javier C. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(2): 109-119
- Smid M, Wang Y, Zhang Y, *et al.* Subtypes of breast cancer show preferential site of relapse[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(9): 3108-3114
- Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options[J]. *Lancet Oncol*, 2007, 8(3): 235-244
- Fiuza UM, Arias AM. Cell and molecular biology of Notch[J]. *J Endocrinol*, 2007, 194(3): 459-474
- 花本林,付欣鸽,胡文浩. 乳腺癌和癌旁乳腺组织中 Notch 基因 mRNA 及蛋白的表达[J]. *中华病理学杂志*, 2009, 38(12): 806-809
- Hirose H, Ishii H, Mimori K, *et al.* Notch pathway as candidate therapeutic target in Her2/Neu/ErbB2 receptor-negative breast tumor[J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(1): 35-43
- Dong Y, Aimin L, Jianbo W, *et al.* Synthetic lethality through combined Notch-epidermal growth factor receptor pathway inhibition in basal-like breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(13): 5465-

5474

- 9 Tokunaga E, Oki E, Kimura Y, *et al.* Coexistence of the loss of heterozygosity at the PTEN locus and HER2 overexpression enhances the Akt activity thus leading to a negative progesterone receptor expression in breast carcinoma[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2007, 101(3): 249–257
- 10 Hennessy BT, Smith DL, Ram PT, *et al.* Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(12): 988–1004
- 11 Bérengère M, Virginie M. Frequent PTEN genomic alterations and activated phosphatidylinositol 3-kinase pathway in basal-like breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Research*, 2008, 10(6): R101
- 12 Lo'pez-Knowles E, O'Toole SA. PI3K pathway activation in breast cancer is associated with the basal-like phenotype and cancer-specific mortality[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(5): 1121–1131
- 13 Grice DM, Vetter I. Golgi calcium pump secretory pathway calcium ATPase 1 (SPCA1) is a key regulator of insulin-like growth factor receptor (IGF1R) processing in the basal-like breast cancer cell line MDA-MB-231[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(48): 37458–37466
- 14 Roderick HL, Cook SJ. Ca^{2+} signalling checkpoints in cancer: remodelling Ca^{2+} for cancer cell proliferation and survival[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(5): 361–375
- 15 Vangheluwe P, Sepulveda MR, Missiaen L, *et al.* Intracellular Ca^{2+} and Mn^{2+} transport ATPases[J]. *Chem Rev*, 2009, 109(10): 4733–4759
- 16 Werner H, Bruchim I. The insulin-like growth factor-I receptor as an oncogene[J]. *Arch Physiol Biochem*, 2009, 115(2): 58–71
- 17 Drabsch Y, ten Dijke P. TGF- β signaling in breast cancer cell invasion and bone metastasis[J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2011, 16(2): 97–108
- 18 Sundqvist A, Ten Dijke P, van Dam H. Key signaling nodes in mammary gland development and cancer: Smad signal integration in epithelial cell plasticity[J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(1): 204
- 19 Ehata S, Hanyu A, Fujime M, *et al.* Ki26894, a novel transforming growth factor beta type I receptor kinase inhibitor, inhibits in vitro invasion and in vivo bone metastasis of a human breast cancer cell line[J]. *Cancer Sci* 2007, 98(1): 127–33
- 20 Korpál M, Yan J, Lu X, *et al.* Imaging transforming growth factor-beta signaling dynamics and therapeutic response in breast cancer bone metastasis[J]. *Nat Med*, 2009, 15(8): 960–966
- 21 Ganapathy V, Ge R. Targeting the Transforming Growth Factor- β pathway inhibits human basal-like breast cancer metastasis[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 122
- 22 Chen HY, Yang YM, Stevens BM, *et al.* Inhibition of redox/Fyn/c-Cbl pathway function by Cdc42 controls tumour initiation capacity and tamoxifen sensitivity in basal-like breast cancer cells[J]. *EMBO Mol Med*, 2013, 5(5): 723–736

(收稿日期: 2013-09-03)

(修回日期: 2013-09-11)

生物补片替代材料在女性盆底重建术中的应用研究进展

杨铎琦 朱 鹏 徐惠成

女性盆底功能障碍 (pelvic floor dysfunction, PFD) 是各种原因导致的盆底支持减弱, 进而盆腔脏器移位引发的盆腔器官位置及功能异常性疾病。该病属女性常见病, 50 岁以上经产妇的发病率高于 50%, 多表现为盆腔器官膨出及压力性尿失禁等症状。盆底重建手术是治疗此病的重要手段。传统手术方式是在已受损筋膜、结缔组织及韧带上进行, 术后复发率高。Oslen 等^[1]报道盆底功能障碍女性在 79 岁龄手术治疗的风险高达 11.1%, 且 30% 因复发

需再次手术。近年来, 生物补片替代材料的研究发展为手术治疗提供了新的选择。

一、生物补片替代材料的种类与材料学特点

理想修复材料应具有以下的特征: ①较好的组织相容性; ②化学惰性; ③良好的弹性和张力; ④感染概率低, 不会诱发过敏及排异反应; ⑤形态的可塑性; ⑥粘连发生少^[2]。但是目前尚无一种替代材料可以满足以上全部要求。生物补片根据材质可分为合成网片及生物材料两类。合成网片根据孔径大小可分为 I~IV 型^[3] (表 1), 大孔径 > 75 μm , 小孔径 < 10 μm 。孔径是合成网片最重要的性质, 决定其并发症及作用的发挥。I 型补片的孔径大于白细胞、巨噬细胞的直径 (> 10 μm), 这些细胞可通过孔径, 减少局部感染, 因此感染率较 II 及 III 型低。孔径也是组织与血管生

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81170553)

作者单位: 400038 重庆, 第三军医大学西南医院妇产科 (杨铎琦、徐惠成); 第三军医大学西南医院感染科 (朱鹏)

通讯作者: 徐惠成, 电子邮箱: xuhuicheng1970@foxmail.com