

硫氧还蛋白互作蛋白在乳腺癌中的研究进展

肖 聪 张懿敏 孙圣荣

摘要 硫氧还蛋白互作蛋白(TXNIP)可以与硫氧还蛋白(TRX)直接结合,作为其内源性抑制蛋白,参与调节细胞内氧化应激水平。TXNIP作为一种抑癌蛋白,在人乳腺癌组织细胞中处于低表达状态,并且与细胞增殖、凋亡、患者预后等相关。本文就乳腺癌中TXNIP的结构、调节氧化应激的功能及抑癌机制做一综述,以证明TXNIP作为乳腺癌分子治疗的新靶点具有潜在价值。

关键词 硫氧还蛋白互作蛋白 乳腺癌 氧化应激

中图分类号 R737.9

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.11.002

硫氧还蛋白互作蛋白(thioredoxin interacting protein, TXNIP)又称维生素D3上调蛋白1(vitamin D3 up-regulated protein 1, VDUP1)和硫氧还蛋白结合蛋白2(thioredoxin binding protein-2, TBP-2),是用 $1\alpha, 25$ -二羟维生素D₃处理HL-60细胞时所首次克隆发现。TXNIP属于 α -视紫红质抑制蛋白(α -arrestin)家族成员,并且是家族中唯一一个可以与硫氧还蛋白(thioredoxin, TRX)结合并抑制其抗氧化功能的蛋白。TXNIP作为一种抑癌蛋白,在肝癌、前列腺癌、甲状腺癌等癌症中均证实有广谱的抗肿瘤作用^[1-3]。在乳腺癌细胞中, TXNIP通过细胞周期阻滞、促进细胞凋亡、抑制细胞侵袭转移、抑制葡萄糖摄取等方式抑制肿瘤,并且能显著改善患者的预后。因此本文将重点阐述TXNIP的结构及其抑制肿瘤的机制,以此证明TXNIP作为乳腺癌分子治疗的新靶点具有潜在价值。

一、TXNIP的结构特点

编码TXNIP的基因位于人染色体1q21~22区,长约4174bp,其中包含8个外显子。TXNIP的启动子约269bp,其中包含一个重要的结构——碳水化合物反应元件(carbohydrate response element, ChoRE),其上面有两个E盒(E-boxes),组成为CACGAG,两者间隔约为100bp,它可以直接通过结合转录因子MondoA: Mlx复合体、碳水化合物反应元件结合蛋白以及转录因子Myc: Max复合体等,从而参与对TX-

NIP的调控^[4]。Baldan等^[5]证实,乳腺癌TXNIP的转录活性还与3种组蛋白修饰相关,其中组蛋白H3赖氨酸9~14乙酰化(H3K9K14ac)和组蛋白H3赖氨酸4三甲基化(H3K4me3)与转录激活相关,而组蛋白H3赖氨酸27三甲基化(H3K27me3)与转录沉默相关,并且在三阴性乳腺癌细胞中, TXNIP的转录活性显著受抑制,从而使TXNIP的抑癌作用难以发挥。目前, TXNIP表达水平的调节大多是通过调控mRNA水平而实现,因此对于TXNIP的调节与其启动子的激活或沉默密不可分。TXNIP蛋白相对分子质量为50kDa,能在胞膜、胞质、胞核、线粒体中穿梭,其隶属 α -视紫红质抑制蛋白家族,结构特点是2个 β 折叠通过一个短序列夹着 α -arrestin的结构域,因而属于该家族成员之一^[6,7]。

二、TXNIP与氧化应激

氧化应激是指体内氧化和抗氧化平衡被打破,倾向于氧化,导致大量细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累而引起的氧化损伤过程^[8]。临床上常用放、化疗来抑制乳腺癌,其机制之一便是促使乳腺癌细胞ROS累积过多,导致磷脂双分子层、核苷酸、线粒体膜等结构损害,最终诱导细胞凋亡坏死以达到抑制癌症的目的^[9]。

TRX在细胞内清除ROS中发挥重要作用,其发挥功能主要是还原型的TRX。在乳腺癌细胞中, TXNIP是 α -arrestin家族中唯一能与TRX结合的蛋白, TXNIP中的半胱氨酸63及半胱氨酸247位点与还原型TRX的活性位点的巯基形成二硫键,从而抑制TRX抗氧化的功能,促使ROS累积。并且TXNIP对TRX/ROS轴的影响会被p38 MAPK信号通路抑制剂SB03580所阻断,提示TXNIP参与p38 MAPK对细

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81502665)

作者单位:430060 武汉大学人民医院乳腺甲状腺外科

通讯作者:孙圣荣,主任医师,教授,博士生导师,电子信箱:sun137

@sina.com

胞内 ROS 的调控^[10]。Hwang 等^[11]对 TXNIP - TRX 的晶体结构分析发现,TRX 与 TXNIP 结合后, TXNIP 分子内的半胱氨酸残基所形成的二硫键会发生结构重排,导致 TXNIP 的结构域产生变化。综上, TXNIP 可以通过结合 TRX 的活性中心,从而抑制其抗氧化的功能,参与对氧化应激的调节,同时 TXNIP 在细胞中序列结构的多样性提示其在细胞功能研究中的潜在价值。

三、TXNIP 与乳腺癌

1. TXNIP 与乳腺癌的凋亡:细胞凋亡又称作程序性细胞死亡,是细胞在基因的调控下发生的主动性死亡的过程, TXNIP 促进乳腺癌细胞凋亡的作用主要与其参与氧化应激的过程有关。TRX 不仅能增加转录因子 AP - 1 的转录,促进肿瘤的发生,也可以与凋亡信号调节激酶 (apoptosis signal - regulating kinase, ASK) 结合,抑制 ASK 的促凋亡作用^[12]。TXNIP 与 TRX 结合后,一方面,TRX 清除 ROS 的能力便下降,导致 ROS 累积,从而促进乳腺癌通过线粒体途径诱导凋亡;另一方面,导致与 TRX 结合的 ASK 减少,从而游离的 ASK 增加,发挥诱导细胞凋亡的作用。Huang 等^[13]在 MCF - 7 及 MDA - MB - 231 乳腺癌细胞中用组蛋白去乙酰化酶抑制剂 SAHA 处理后, TXNIP 显著上升,凋亡相关蛋白 Bax/Bcl2 比例增大,细胞发生明显凋亡,证实 TXNIP 在不同分子类型乳腺癌的凋亡中均发挥重要作用。Baldan 等^[5]证实,在三阴性乳腺癌 MDA - MB - 157 细胞中使用 SAHA 联合 PJ34 刺激 TXNIP 蛋白表达之后,细胞内 caspase - 3 的活性显著升高,从而诱导肿瘤细胞凋亡;而三阴性乳腺癌 MDA - MB - 468 细胞与 MDA - MB - 157 细胞相比,不仅 TXNIP 的转录活性与组蛋白修饰程度不同,并且药物联合作用后, TXNIP 的变化及 caspase - 3 的活性均未发生显著变化,提示 TXNIP 促凋亡的机制与 caspase - 3 活性的升高有关,并且两种三阴性乳腺癌之间的作用差异可能与 TXNIP 及其组蛋白修饰水平相关。

2. TXNIP 与乳腺癌的细胞周期:细胞周期主要由细胞周期蛋白依赖激酶 (cyclin - dependent kinases, CDK) 正向调控,而 p27^{kip1} 是一种 CDK 的抑制蛋白,主要通过影响 Cyclin/CDK 复合物的活性,诱导肿瘤细胞阻滞于 G₁ 期,从而达到细胞周期阻滞的作用^[14]。而 Jun 激活区域 - 连接蛋白 1 (c - Jun activation domain - binding protein 1, JAB 1) 能与之结合,降低其稳定性,加速 p27^{kip1} 的降解^[15]。Jeon 等^[16]研究

证实, TXNIP 不仅可以下调 TRX 活性,还可以直接作用于 JAB1,增加 p27^{kip1} 的稳定性,使肿瘤细胞阻滞于 G₁ 期。而缺乏 TXNIP 后, JAB1 则会与 p27^{kip1} 结合,加速其降解,使之不能发挥细胞周期阻滞的作用。Park 等^[17]利用 TCGA 数据库分析及人乳腺癌组织芯片进行免疫组化实验,证实 TXNIP 和 Ki67 呈负相关,而与 p27^{kip1} 呈正相关, TXNIP 的高表达则提示细胞周期更长、增殖更慢。为了证实 TXNIP 作为抑癌蛋白的重要性,随后在人乳腺癌细胞中敲除 TXNIP,证实缺乏 TXNIP 后,癌细胞摄取葡萄糖显著增加、增殖周期更短,并且显著降低氟维司群对肿瘤细胞的有效性。

3. TXNIP 与乳腺癌的侵袭转移:上皮 - 间质转化 (epithelial - mesenchymal transition, EMT) 是指具有极性的上皮细胞转化为能在细胞基质间自由活动的间质细胞的过程,是肿瘤发生侵袭转移中特有的生物学特征。多项研究已证明, EMT 在肿瘤发生侵袭转移的过程中扮演着重要的角色, EMT 发生后,肿瘤细胞的侵袭能力明显增强^[18]。Chen 等^[19]研究证实, miRNA - 373 能结合在 TXNIP 的 3' 端非翻译区,下调 TXNIP 表达水平之后,激活 HIF - α - TWIST 轴,促使乳腺癌细胞发生 EMT,同时通过免疫组化方法证实,高表达的 TXNIP 与更低的 TNM 分级及更少的淋巴结转移相关。李建华等^[20]在乳腺癌细胞中构建过表达/沉默 TXNIP 模型,证实过表达 TXNIP 之后,细胞的增殖及迁移能力均显著下降,而沉默 TXNIP 则显著增加乳腺癌的增殖及迁移能力,提示 TXNIP 在抑制乳腺癌侵袭转移中发挥重要作用,其中机制可能与抑制 AKT/GSK3 β 信号通路有关。

4. TXNIP 与乳腺癌的糖代谢:肿瘤细胞较正常细胞,有着更高的代谢速率,能源源不断的从微环境中吸收营养,以提供自己的能量所需。因此大量的基础和临床研究已证实高血糖可以促进肿瘤的发生、发展,成为致癌的危险因素。MondoA/MLX 是一种对糖十分敏感的转录因子复合体,可以在线粒体外膜和核膜来回穿梭。在高糖环境下, TXNIP 启动子上的碳水化合物反应元件在核因子 Y (nuclear factor Y, NFY) 的参与下,能招募 MondoA/MLX 复合体,从而刺激 TXNIP 转录的激活。高糖能促进 TXNIP 表达,反过来 TXNIP 能抑制葡萄糖转运体葡萄糖转运体 1 (glucose transporters 1, GLUT1) 在细胞膜的分布,从而抑制癌细胞对葡萄糖的摄取。Hong 等^[21]研究证实 TXNIP 与 GLUT1 结合后,会被网格蛋白包绕,形成囊

泡,促进其内吞,因此减少细胞膜上 GLUT1 的分布,从而直接抑制葡萄糖向细胞内转运;其次 TXNIP 也会下调 GLUT1 的转录水平,从而间接减少肿瘤细胞对葡萄糖的摄取。为了证实 TXNIP 在乳腺癌糖代谢中的作用,Shen 等^[22]在人乳腺癌细胞通过沉默和过表达 TXNIP 之后,证实 Myc:Max 转录复合体与 MondoA: Mlx 转录复合体竞争结合在 TXNIP 启动子上的 E 盒,下调 TXNIP 的转录后,从而导致癌细胞摄取更多葡萄糖,增殖速度显著加快。Noguchi 等^[23]在人肝癌细胞、乳腺癌细胞及神经母细胞瘤细胞这 3 种细胞株中证实右旋阿洛糖上调 TXNIP 转录及蛋白表达后, GLUT1 的表达显著减少,使肿瘤细胞对葡萄糖摄取均明显下降,从而发挥广谱抑制肿瘤的作用。综上所述,高血糖会促进肿瘤的发生和发展,同时也会促进 TXNIP 的表达,但 TXNIP 表达升高后,以负反馈的形式抑制了肿瘤细胞摄取过多葡萄糖,从而发挥抑制肿瘤的作用。

5. TXNIP 与乳腺癌的预后:TXNIP 不仅体现在抑制肿瘤的生物学特征,并且与肿瘤患者的预后息息相关。大部分乳腺癌患者中, TXNIP 处于低表达状态,而在 TXNIP 高表达的患者中,往往提示患者具有更良好的预后。Nie 等^[24]对共计 150 例乳腺癌患者的癌组织进行免疫组化实验来对比 TXNIP 的差异及影响,证实 32% 的患者 TXNIP 呈高表达,68% 患者呈低表达,且 TXNIP 高表达的患者较低表达的患者有更低的分期分级及更好的总生存期(overall survival, OS)。Shen 等^[22]研究证实在 288 例三阴性乳腺癌的患者中,高表达 TXNIP 的患者的无转移生存时间也较低表达 TXNIP 的患者更长,并且证实 TXNIP 是受 c-Myc 的负向调节,提示 TXNIP 在 Myc 的基因治疗中具有潜在价值。有研究者利用组织芯片及免疫组化技术等证实,乳腺癌组织中 TXNIP 处于低表达的状态,并且 TXNIP 与其他不良预后的指标呈负相关,如 Ki67,提示 TXNIP 联合 Ki67 有预测乳腺癌患者预后的潜在价值。综上所述, TXNIP 不仅在组织细胞水平上证实与抑制肿瘤有关,同时也在生存获益上预示着患者有更良好的预后,因此 TXNIP 以后可能发展为临床上评估患者病情及预测预后的重要指标。

四、展 望

乳腺癌的发生率在我国一直高居不下,严重影响患者的身心健康,给患者及其家属带来了极大的负担。TXNIP 在人乳腺癌细胞中参与严密、精准的调控,不仅参与细胞内氧化应激的调控,并且以促进细

胞凋亡、阻滞细胞周期、抑制癌症侵袭转移、抑制糖摄取等方式抑制乳腺癌细胞,且高表达的 TXNIP 能使患者生存获益,这均提示 TXNIP 具有抑制乳腺癌的潜在价值。然而,目前关于 TXNIP 在乳腺癌中生物学功能的研究多局限于基础研究,缺乏大样本的临床对照研究证实。因此如何将这一分子研究更好地与临床结合,用于对易感人群的个体化治疗和疾病监测,这是今后亟需解决的问题,也将具有更重要的临床和科研价值。

参考文献

- 1 Li J, Yue Z, Xiong W, *et al.* TXNIP overexpression suppresses proliferation and induces apoptosis in SMMC7221 cells through ROS generation and MAPK pathway activation [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(6): 3369-3376
- 2 Wei M, Jiao D, Han D, *et al.* Knockdown of RNF2 induces cell cycle arrest and apoptosis in prostate cancer cells through the upregulation of TXNIP [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(3):5323-5338
- 3 Morrison JA, Pike LA, Sams SB, *et al.* Thioredoxin interacting protein (TXNIP) is a novel tumor suppressor in thyroid cancer [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13(1):62
- 4 Filhoulaud G, Guilmeau S, Dentin R, *et al.* Novel insights into ChREBP regulation and function [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2013, 24(5):257-268
- 5 Baldan F, Mio C, Lavarone E, *et al.* Epigenetic bivalent marking is permissive to the synergy of HDAC and PARP inhibitors on TXNIP expression in breast cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(5):2199-2206
- 6 Spindel ON, Yan C, Berk BC. Thioredoxin - interacting protein mediates nuclear - to - plasma membrane communication: role in vascular endothelial growth factor 2 signaling [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(5):1264-1270
- 7 Giorgi C, Missiroli S, Patergnani S, *et al.* Mitochondria - associated membranes: composition, molecular mechanisms, and physiopathological implications [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22(12):995-1019
- 8 高婷, 王子旭, 陈祝茗, 等. ROS 介导的氧化应激与自噬 [J]. *中国畜牧兽医*, 2018, 45(3):656-662
- 9 Gorrini C, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(12):931-947
- 10 Turturro F, Friday E, Welbourne T. Hyperglycemia regulates thioredoxin - ROS activity through induction of thioredoxin - interacting protein (TXNIP) in metastatic breast cancer - derived cells MDA - MB - 231 [J]. *BMC Cancer*, 2007, 7(1):96
- 11 Hwang J, Suh HW, Jeon YH, *et al.* The structural basis for the negative regulation of thioredoxin by thioredoxin interacting protein [J]. *Nat Commun*, 2014, 5(1):2958
- 12 Forman HJ, Ursini F, Maiorino M. An overview of mechanisms of redox signaling [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 73:2-9

(下转第 168 页)

一次术后 PCI 评分与复发间隔时间相关性比较差异无统计学意义,研究提示基于 PMP 惰性的生物学行为,不能片面追求手术的彻底性而勉强行超根治手术,导致脏器功能受损,这个结果与大部分的研究相悖,不能除外部分手术记录中 PCI 评分的主观性导致。本研究发现是否行 PIC 与复发间隔时间相关性比较,差异无统计学意义,由于 CRS + PIC 联合治疗已被推荐为标准方案,对照组患者不愿意接受随机化的对照,因而目前对 PIC 的研究只有观察性研究。本研究数据亦存在相似的问题,经过 PIC 治疗者 68 例,未行 PIC 者 6 例,其中 3 例因腹腔情况不允许,放弃治疗,另 3 例家属拒绝 PIC。PIC 与复发间隔时间相关性比较差异无统计学意义。该结论的有效性有待于多中心临床随机对照试验来验证。Gough 等^[2]认为,腹腔化疗的患者较全身化疗有明显的生存改善。全身系统性化疗在 PMP 患者中并未被推崇,本研究 27 例均在外院行全身系统性的化疗,是否行系统化疗与复发间隔时间比较差异有统计学意义,然而得出的结论是呈负相关:行系统化疗,复发间隔时间越近。而 Logistic 分析发现,系统化疗与否并非是影响复发间隔时间的独立的预后因素。因而笔者亦不提倡行全身系统化疗。

综上所述,对于复发性腹膜假黏液瘤应积极应对,切不可轻易放弃治疗,减瘤术联合 PIC 仍为推荐的首选方法,不推荐使用全身系统化疗,不能为追求低的 PCI 评分,而过分地损伤脏器功能;病理级别是影响复发间隔时间的重要因素,笔者亦提倡应根据不同病理级别确定 CRS 减瘤范围及 PIC 化疗方案,包括化疗药物选择、剂量、治疗周期等,以延长复发间隔

时间,改善患者生活质量。

参考文献

- Bosman FT. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. WHO classification of tumours of the digestive system [M]. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010: 417
 - Gough DB, Donohue JH, Schutt AJ, et al. Pseudomyxoma peritonei: long term patient survival with an aggressive regional approach [J]. Ann Surg, 1994, 219(2): 112 - 119
 - Witkamp AJ, de Bree E, Kaag MM, et al. Extensive surgical cytoreduction and intraoperative hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in patients with pseudomyxoma peritonei [J]. Br J Surg, 2001, 88(8): 458 - 463
 - 牛磊,王春喜,陈进贵.腹膜假黏液瘤 52 例临床诊疗分析[J].军医进修学报,2012,33(10):1042 - 1044
 - Ronnett BM, Zahn CM, Kurman RJ, et al. Disseminated peritoneal adenomucinosis and peritoneal mucinous carcinomatosis: a clinicopathologic analysis of 109 cases with emphasis on distinguishing pathologic features, site of origin, prognosis, and relationship to "pseudomyxoma peritonei" [J]. Am J Surg Pathol, 1995, 19(12): 1390 - 1408
 - Ronnett BM, Yan H, Kurman RJ, et al. Patients with pseudomyxoma peritonei associated with disseminated peritoneal adenomucinosis have a significantly more favorable prognosis than patients with peritoneal mucinous carcinomatosis [J]. Cancer, 2001, 92(1): 85 - 91
 - Pai RK, Beck AH, Norton JA, et al. Appendiceal mucinous neoplasms: clinicopathologic study of 116 cases with analysis of factors predicting recurrence [J]. Am J Surg Pathol, 2009, 33(10): 1425 - 1439
 - Roy P, Chetty R. Goblet cell carcinoid tumors of the appendix: an overview [J]. World J Gastrointestinal Oncol, 2010, 2(6): 251 - 258
 - Chua TC, Moran BJ, Sugarbaker PH, et al. Early - and long - term outcome data of patients with pseudomyxoma peritonei from appendiceal origin treated by a strategy of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy [J]. J Clin Oncol, 2012, 30(20): 2449 - 2456
 - Sugarbaker PH. Pseudomyxoma peritonei [J]. Cancer Treat Res, 1996, 81(1): 105 - 119
 - Esquivé J, Sticca R, Sugarbaker PH, et al. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in the management of peritoneal surface malignancies of colonic origin: a consensus statement [J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(1): 128 - 133
- (收稿日期:2019 - 02 - 20)
(修回日期:2019 - 03 - 03)
- (上接第 7 页)
- Huang L, Pardee AB. Suberoylanilide hydroxamic acid as a potential therapeutic agent for human breast cancer treatment [J]. Mol Med, 2000, 6(10): 849 - 866
 - 刘广寅,刘琳,张志勇,等.细胞周期蛋白依赖性激酶调节亚基 1 和 p27kip1 在老年乳腺浸润性导管癌中的表达及临床意义[J].中国老年学杂志,2015, 35(6): 1680 - 1681
 - Yang HY, Yang H, Zhao R, et al. Modified p27 Kip1 is efficient in suppressing HER2 - mediated tumorigenicity [J]. J Cell Biochem, 2010, 98(1): 128 - 138
 - Jeon JH, Lee KN, Hwang CY, et al. Tumor suppressor VDUP1 increases p27(kip1) stability by inhibiting JAB1 [J]. Cancer Res, 2005, 65(11): 4485 - 4489
 - Park JW, Lee SH, Woo GH, et al. Downregulation of TXNIP leads to high proliferative activity and estrogen - dependent cell growth in breast cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498(3): 566 - 572
 - 殷晓丽,刘兆玉.上皮间质转化在肿瘤中的研究进展[J].医学综述,2017, 23(12): 2359 - 2363
 - Chen D, Dang BL, Huang JZ, et al. MiR - 373 drives the epithelial - to - mesenchymal transition and metastasis via the miR - 373 - TXNIP - HIF1 α - TWIST signaling axis in breast cancer [J]. Oncotarget, 2015, 6(32): 32701 - 32712
 - 李建华,徐利强,倪修文,等. VDUP1 对乳腺癌细胞 MCF - 7 增殖及迁移的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(6): 1060 - 1064
 - Hong SY, Yu FX, Luo Y, et al. Oncogenic activation of the PI3K/Akt pathway promotes cellular glucose uptake by downregulating the expression of thioredoxin - interacting protein [J]. Cell Signal, 2016, 28(5): 377 - 383
 - Shen L, O'Shea JM, Kaadige MR, et al. Metabolic reprogramming in triple - negative breast cancer through Myc suppression of TXNIP [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(17): 5425 - 5430
 - Noguchi C, Kamitori K, Hossain A, et al. D - Allose inhibits cancer cell growth by reducing GLUT1 expression [J]. Tohoku J Exp Med, 2016, 238(2): 131 - 141
 - Nie W, Huang W, Zhang W, et al. TXNIP interaction with the Her - 1/2 pathway contributes to overall survival in breast cancer [J]. Oncotarget, 2015, 6(5): 3003 - 3012
- (收稿日期:2019 - 01 - 21)
(修回日期:2019 - 02 - 27)