

维甲酸治疗乳腺癌生物靶点的研究进展

林乐岷 代文杰

生物靶向治疗和化学预防是乳腺癌防治研究的热点之一。抗肿瘤策略正从传统的非选择性细胞毒性药物应用向针对机制的多环节作用的生物靶向治疗发展。维甲酸(retinoids)是天然或人工合成的维生素 A 衍生物。维甲酸作为促进恶性肿瘤细胞向成熟分化的分化诱导剂,对乳腺癌发挥多靶向治疗和化学预防作用。

在动物实验中,维甲酸对许多肿瘤细胞具有抑制生长和促进凋亡的作用。临床上,维甲酸能够有效治疗急性早幼粒细胞白血病、黏膜白斑病、复发的头颈部鳞癌^[1]。维甲酸通过对细胞基因表达的影响来调节正常和肿瘤细胞的生长和分化。基因表达通过位于细胞核的维甲酸受体和位于细胞膜的一类固醇激素受体家族介导,前者是配体活化转录因子^[2]。近年来,许多研究表明:维甲酸还可抑制乳腺癌细胞生长、促进凋亡和部分分化,是目前国内外关注的抗肿瘤多靶向治疗药物之一^[3-4]。其抗肿瘤的主要作用机制包括:(1) 细胞周期阻滞;(2) 促凋亡;(3) 促分化;(4) 抗新生血管生成;(5) 抗肿瘤浸润与转移;(6) 放化疗细胞毒增敏。本文就维甲酸治疗乳腺癌生物靶点的新进展作如下综述。

1 肿瘤研究中常用的维甲酸

全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA),分子式为 $C_{20}H_{28}O_2$,分子质量为 300.44。

ATRA 异构体有 13-顺维甲酸(13-cis-retinoic acid),分子式为 $C_{20}H_{28}O_2$,分子质量为 300.44;9-顺维甲酸(9-cis-retinoic acid),分子式为 $C_{20}H_{28}O_2$,分子质量为 300.44;N-4-羟苯基维甲酸(N-4-hydroxyphenyl retinoic acid, 4-HPR),分子式为 $C_{26}H_{33}NO_2$,分子质量为 391.55。

ATRA 代谢产物为 4-氧 ATRA(4-oxo-ATRA)和 5,6-环氧 ATRA(5,6-epoxy-ATRA)。

2 维甲酸治疗乳腺癌生物靶点的研究

2.1 维甲酸受体

ATRA 是一个对应于维甲酸受体(retinoic acid receptor, RAR)和维甲酸 X 受体

(retinoid X receptor, RXR) 的配体(ligand)。RAR 分为 α 、 β 、 γ , 即 RAR- α 、RAR- β 、RAR- γ 。人 RAR- β 有 3 种: β -1、 β -2、 β -4, 在维甲酸介导的细胞生长和凋亡中起重要作用。

ATRA 与 RAR 或 RXR 结合后, 作为调节正常和肿瘤细胞生长和分化的转录因子, 其生理效应受两个维甲酸受体家族即 RAR- α 和 RXR 的调节。抑制正常人乳腺上皮细胞维甲酸受体(α 、 β 、 γ) 功能将导致增加细胞增殖, 抑制极化上皮形成; ATRA 和 RARs 在调节正常人乳腺上皮细胞增殖和分化中起重要作用^[5]。

雌激素受体(estrogen receptor, ER) 阳性乳腺癌细胞表达 RAR- α , 对 ATRA 生长抑制作用敏感^[6]。大多数 ER(-) 乳腺癌细胞表达很少或不表达 RAR- α , 对 ATRA 不敏感; RAR- α 过度表达使 ER(-) 的 MDA-MB-231 乳腺癌细胞对 ATRA 的抗增殖作用敏感^[7]。

RAR- β 基因被认为是肿瘤抑制基因。RAR- β -2 mRNA 的表达缺失在肿瘤发生过程中起重要作用。研究发现多数乳腺癌细胞缺少或下调 RAR- β mRNA 表达, 正常乳腺上皮细胞的表达则上调^[8]。RAR- β -2 是乳腺癌细胞增殖有效的抑制物; RAR- β -4 则是 RAR- β -2 介导的具有生长抑制作用的主要阴性受体。RAR- β 表达的可诱导性在调节维甲酸时发挥作用。ATRA 对乳腺癌细胞的生长抑制作用与 RAR- β -2 mRNA 诱导有关, ATRA 抵抗与诱导失败有关^[9-10]。RAR- β 拮抗剂和 RAR- β 反义表达可抑制 ER(+) 细胞对 ATRA 的敏感性^[10-11]。RAR- β 表达载体转染的 ER(-) 乳腺癌细胞可恢复 ATRA 的敏感性^[9-10, 12]。转染正义 RAR- β cDNA 的 MCF-7 乳腺癌细胞, 在 RAR- α 选择性拮抗剂 RO41-5253 作用下也表达胰岛素样生长因子结合蛋白-3(insulin-like growth factor-binding protein-3, IGFBP-3)。转染反义 RAR- β cDNA 的 MCF-7 乳腺癌细胞后, ATRA 诱导的 IGFBP-3 表达被阻滞, 证明 RAR- β 参与 ATRA 所致的 IGFBP-3 诱导过程的调节。ATRA 诱导 IGFBP-3 表达发生在转录水平。RAR- α 和 RAR- β 在乳腺动态平衡和乳腺癌发生方面有重要意义。RAR- β 可能在乳腺癌发生及进展过程中起关键作用^[13]。

ATRA 对转移性和非转移性乳腺癌细胞株的不同作用与 RAR- β 受体不同亚型的表达有关; RAR- β -4 代表转移特性^[14]。NM-2C5 非转移性乳腺癌细胞株对 ATRA 敏感, 表现为生长抑制和凋亡, 仅表达 RAR- β -2 受体。M-4A4 转移性乳腺癌细胞株对 ATRA 抵抗, 且同时表达 RAR- β -2 和 RAR- β -4。ATRA 作用 NM-2C5 细胞株表现为 RAR- β -2 mRNA 上调, 然而 ATRA 作用 M-4A4 细胞株表现为 RAR- β -4 上调和 RAR- β -2 mRNA 下调。ATRA 作用 NM-2C5 表现为组蛋白乙酰转移酶 P300 和 CBP 的蛋白水平上调, 乙酰化组蛋白 H4 水平上调, Bax 上调, 组蛋白脱乙酰酶水平下调, Bcl-2 和 VEGF 下调。在 M-4A4 细

胞株,结果截然相反。

2.2 HER-2/*neu* 基因与乳腺癌细胞的 ATRA 抵抗

HER-2/*neu* 能阻止 ATRA 抑制 MDA-MB-453 乳腺癌细胞生长。HER-2/*neu* 主要通过 Akt 抑制 RAREs(retinoic acid response elements)的结合活性^[15]。ATRA 能抑制 MCF-7 乳腺癌细胞生长,但被 HER-2/*neu* 转染的细胞株则不能^[16]。HER-2/*neu* 通过 Grb2 和 Akt 蛋白引起乳腺癌细胞产生 ATRA 抵抗作用。ATRA 敏感性与 RAR- α 蛋白水平相关,高水平状态下 HER-2/*neu* 通路被抑制。

4-羟苯基维甲酰胺(4-hydroxyphenyl Retinamide,4-HPR)可以选择性增强 ATRA 抑制 HER-2/*neu* 过度表达的乳腺癌细胞生长^[17]。4-HPR 联合 ATRA 治疗 HER-2/*neu* 过度表达的乳腺癌将是一种治疗选择。

2.3 激活蛋白 1(activator protein 1, AP-1)

AP-1 是由 jun、fos 基因家族表达产物组成的二聚体。AP-1 活化与乳腺细胞增殖和转移有关^[18]。ATRA 可以抑制乳腺癌细胞的 AP-1 活性^[19]。ATRA 活化的 RARs 和 AP-1 成分,竞争共激活物直接参与了作用过程^[20]。

2.4 IGFBP-3

有学者提出维甲酸通过抑制或诱导生长刺激因子的表达来抑制细胞生长。这种对应维甲酸的生长因子变化是机制还是活化标志物,目前没有定论。胰岛素样生长因子 I (Insulin-like growth factor- I , IGF- I) 与乳腺发育有关^[21]。在绝经前妇女,循环系统中升高的 IGF- I 水平与乳腺癌发生增加有关^[22]。

IGFBPs 调节 IGF 生物效应和 IGF- I 受体对 IGF-I 的反应性^[23]。ATRA 介导的抗增殖作用与 IGFBPs 分泌增加有关^[24]。ATRA 能诱导 IGFBP-3 表达。抑制 IGFBP-3 表达将降低 ATRA 诱导的乳腺癌细胞抗增殖作用^[13]。4-HPR 能抑制 ER(+) 和 ER(-) 乳腺癌细胞生长,与 IGF- I 、IGFBP-4、IGFBP-5、I 型 IGF 受体 mRNA 下调有关^[25]。4-HPR 治疗绝经期前妇女的 I 期乳腺癌 1 年,患者血浆中 IGF- I 水平下降^[26]。

IGFBP-3 对细胞生长有 IGF 依赖和非依赖作用,通常表现为细胞生长抑制。MCF-7 乳腺癌细胞不表达 RAR- β 和 IGFBP-3。ATRA 可以诱导 MCF-7 细胞表达 RAR- β 和 IGFBP-3 蛋白。Shang 等^[13]使用 RAR- α 拮抗剂 RO41-5253 后,发现 ATRA 诱导 RAR- β 表达是通过 RAR- α 依赖信号传导通路,并且 RAR- β 表达与 IGFBP-3 诱导有关。IGFBP-3 能阻断 ATRA 诱导 Hs578T、MDA-MB-231 乳腺癌细胞的 RAR/RXR 异二聚体的形成并破坏配体诱导的受体复合物。免疫中和 ATRA 抵抗 Hs578T、MDA-MB-231 细胞株后,细胞株对 ATRA 生长抑制作用敏感^[27]。

2.5 转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)

TGF- β 是上皮细胞的生长抑制剂。ATRA 可增加乳腺癌细胞的 TGF- β 活性;TGF- β 抗体不能阻止 ATRA 诱导的抗增殖作用^[28]。ATRA 治疗乳腺癌患者 3 周,TGF- β mRNA 水平升高^[29]。缺少 TGF- β 1 的乳腺癌细胞对 4-HPR 诱导的凋亡抵抗^[30]。对 4-HPR 抵抗细胞,其 TGF- β 1 不增加^[31]。虽然 TGF- β 对早期乳腺癌细胞有生长抑制作用,但是 TGF- β 主要具有致肿瘤活性^[32]。乳腺癌细胞和肿瘤细胞均可检测出 TGF- β mRNA;TGF- β mRNA 的表达与肿瘤侵袭性、转移性的增加,药物抵抗的增加和免疫抑制作用有关^[33]。

2.6 氧化亚氮(Nitric oxide, NO)

NO 是 NOS(nitric oxide synthases)作用 L-精氨酸产生的自由基,具有促凋亡和抗凋亡作用。在乳腺癌细胞,NO 主要是抗增殖和促凋亡作用^[34]。NOS 产生的 NO 对药理浓度的 4-HPR 诱导的乳腺癌细胞凋亡起关键作用^[35]。NO 的产生可能是 4-HPR 治疗乳腺癌的作用机制之一。通过 NO 产生增加,三苯氧胺和 γ -干扰素可增强 4-HPR 治疗乳腺癌细胞的作用^[35]。环孢素 A 增强 4-HPR 诱导乳腺癌细胞的凋亡作用,这种作用与 NO 产生增加相关^[17]。

2.7 神经酰胺(Ceramide)

鞘脂类神经酰胺与 4-HPR 诱导的凋亡有关。研究表明:4-HPR 增加乳腺癌细胞的神经酰胺水平,神经酰胺代谢抑制剂增强 4-HPR 诱导的凋亡^[36]。

2.8 4-HPR

4-HPR 介导的乳腺癌细胞生长抑制涉及基因表达和细胞周期的变化。4-HPR 是乳腺癌细胞强有力的凋亡诱导剂^[37]。Caspase 活化与 4-HPR 诱导的凋亡有关^[38]。4-HPR 对乳腺癌细胞的抗增殖作用与 cyclin D1 表达下调、cdk2 和 cdk4 活性下降、pRb 脱磷酸化有关^[39]。

2.9 细胞周期影响

许多细胞周期调节因子参与维甲酸作用的乳腺细胞周期的调节,包括 cyclins D、cyclins E、cdks2 (cyclin-dependent kinases)、cdks4、cdks6、P15、P16、P21、pRb(retinoblastoma protein)。ATRA 作用的乳癌细胞生长抑制作用与 cyclin D1 和 cyclin D3 表达下调、cdk2 和 cdk4 活化、pRb 表达和磷酸化有关^[40-41]。ATRA 作用正常乳腺上皮细胞,可使 P21 表达上调、cdk2 活性下调^[28]。

ATRA 阻止细胞周期 G₁ 到 S 期,产生乳腺细胞的抗增殖作用。

协调的 cyclin D1 表达对人乳腺上皮细胞(human mammary epithelial cells, HMECs)的动态平衡起关键作用。正常人乳腺上皮细胞 cyclin D1 表达调节紊乱,可抑制 ATRA 介导的 G₀/G₁ 阶段分化。cyclin D1 调节紊乱可能导致维甲酸抵抗和发生乳腺癌^[42]。

2.10 维甲酸信号传导调控中的其他成分

近年来,又有学者发现在维甲酸信号传导调控网络中起重要作用的两个成分:共抑制物(CoR)和共激活物(CoA)。CoR 包括几种不同的蛋白成分:核受体共抑制物(N-CoR)、维甲酸-甲状腺素受体沉默调节子(SMRT)、组蛋白去乙酰化酶(HDAC)。CoA 是一种多蛋白复合物,包括 CBP/P300(CREB-binding protein, CBP)、P300/CBP 结合因子(P/CAF)、ACTR 和 TIF-1/TIF-2。CoA 都有组蛋白乙酰化(HAT)活性。无适宜配体时,RAR/RXR 异二聚体与 CoR 结合,通过组蛋白的去乙酰化抑制转录。与维甲酸结合后,CoA 取代 CoR 与 RAR/RXR 异二聚体结合,通过组蛋白乙酰化和基本转录复合物积聚来激活转录。

ATRA 和 RARs 可以调节人乳腺癌上皮细胞生长抑制和凋亡,并能调节 CBP/P300 蛋白表达^[43]。因为正常情况下 CBP 和 P300 以少量形式存在,ATRA 和 RARs 对生长停止和凋亡细胞基因转录活化的控制起重要作用。

ATRA 诱导的 MCF-7 细胞凋亡与丝氨酸/苏氨酸、蛋白磷酸酶的活性和表达有关^[44]。ATRA 诱导的 SKBR-3[ER(-)、RAR(+)]乳腺癌细胞生长抑制与蛋白激酶 C- α -促分裂原活化蛋白激酶(protein kinase c-alpha-mitogen-activated protein kinase, PKC- α -MAPK) 通路有关^[45]。

多参数流式细胞仪分析线粒体通透性显示 ATRA 和 4-HPR 诱导的 MCF-7 人乳腺癌细胞凋亡通过两种不同的生物化学机制^[46]。流式细胞仪和 DNA 分析表明 ATRA 抑制 MCF-7 乳腺癌细胞生长有两种机制:一方面阻滞细胞增殖,主要发生于 S 前期;另一方面诱导凋亡^[47]。ATRA 介导的 G₁-S 阶段细胞分化停止不依赖于 P53 蛋白表达^[48]。

细胞间黏附分子 1(ICAM-1)是一种调节细胞之间接触的分子。ATRA 通过 ICAM-1 表达上调抑制人乳腺癌细胞生长^[49]。

信号传导子及转录激活子 1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)是细胞因子介导的细胞凋亡的介质。ATRA 对 MCF-7 乳腺癌细胞治疗中,STAT 磷酸化(活化)由 RAR- β 介导。ATRA 对 MCF-7 的 RAR- β 诱导,伴随着 STAT1 基因转录的活化^[50]。

细胞核的维甲酸受体和膜 C-erbB 受体参与控制乳腺上皮细胞增殖和分化的信号传导。C-erbB 受体活化可以刺激 RAR- α 表达。维甲酸通过抑制细胞周期和诱导凋亡来抑制 SK-BR-3 乳腺癌细胞生长,伴随 C-erbB-2 和 C-erbB-3 下调,但 C-erbB-1 不受影响^[51]。

ATRA 明显增加 ER(-)、RAR- α (+)人乳腺癌细胞株 BT20、SKBR3 中 c-fms 原癌基因的转录水平;该过程可被 RO41-5253(人工合成的 RAR 拮抗剂)阻断^[52]。

通过克隆人乳腺癌 MCF-7 肿瘤细胞凋亡相关的基因,分析克隆基因与凋亡的关系。结果证实维甲酸所诱导的肿瘤细胞凋亡是一个多基因参与的过程^[53]。

ATRA 通过 RARs 和 RXRs 影响细胞增殖、分化、凋亡;其他受体,如 TR3 (orphan receptor) 也参与 ATRA 的细胞调控过程。细胞核内 TR3/RXR alpha 异二聚体的形成和随后的细胞质中转移,伴随凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bcl-xl、Bax 调节,是 ATRA 诱导的 MCF-7 乳腺癌细胞凋亡的关键^[54]。

3 维甲酸与其他试剂的协同作用

3.1 维生素 D3

1,25-二羟基维生素 D3 和 ATRA 均可诱导人乳腺癌细胞分化^[55]。维生素 D3 和维甲酸结合到细胞核受体的相关膜上,并与它们的配体一起,通过目的基因启动因子的同源反应物来调节转录^[56]。维生素 D3 和 ATRA 可抑制许多肿瘤细胞生长。单独应用 ATRA 抑制 MCF-7 乳腺癌细胞的效果优于单独应用维生素 D3。在 MCF-7 乳腺癌细胞的裸鼠动物实验中,两者联合应用具有协同作用,治疗后肿瘤体积减少 3 倍^[57]。1,25-二羟基维生素 D3 和 ATRA 单独或联合应用可增加乳腺癌细胞对阿霉素的敏感性^[58]。

3.2 干扰素

维甲酸和干扰素可协同抑制培养的乳腺癌细胞增殖。干扰素- α (IFN- α) 增加 RAR- γ 表达,抑制细胞视黄酸结合蛋白 II (cellular retinoic acid binding protein type II, CRABP-II) 表达。IFN- α 和 ATRA 可协同抑制 BT-20、SKBR-3 乳腺癌细胞,但不能抑制 MCF-7 乳腺癌细胞。两者联合可以增加 RAR- γ 表达,单独应用则不能。与单独应用维甲酸相比,对 MCF-7 乳腺癌细胞,维甲酸和 IFN- α 增加 CRABP-II 表达;对 SKBR-3、BT-20 细胞系,联合应用则明显减少 CRABP-II 表达。这些结果表明,CRABP-II 表达下调与 IFN- α 和维甲酸诱导的 RAR- γ 表达上调是维甲酸和 IFN- α 协调作用的两个因素^[59]。

RAR- γ 介导 ATRA 对乳腺癌细胞的抗增殖作用。RAR- γ 或 ATRA 结合物和 IFN- α 协同能抑制 MCF-7、SKBR-3、T47D、Zr-75-1 乳腺癌细胞及维甲酸抵抗细胞 BT20、734-B 的增殖^[60]。

3.3 过氧化物酶体增生物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR- γ) 配体及 troglitazone (TGZ)

PPAR- γ 配体是一种配体活化的转录因子,可调节正常细胞和癌细胞的生长、分化和凋亡。PPAR- γ 和 ATRA 一样,可抑制人乳腺癌细胞的浸润^[61]。PPAR- γ 配体和维甲酸受体 (RXR、RAR、RAR/RXR 和 RXR/RXR) 结合能诱导 bcl-2 阳性人乳腺癌细胞的凋亡^[62]。

通过细胞核激素受体(nuclear hormone receptors, NHRs)的配体诱导癌细胞分化和凋亡是一种很有前景的癌症治疗方法。ATRA 和 RAR 特异 NHR 配体现已开始被用于治疗某些癌症。PPAR- γ 在乳腺癌细胞中表达。合成配体的 TGZ 或其他 PPAR- γ 活化剂可以活化 PPAR- γ , 抑制培养的乳腺癌细胞增殖。

TGZ 和 ATRA 联合可以协同抑制 MCF-7 乳腺癌细胞生长, 促进凋亡, 下调 bcl-2 表达, 但正常乳腺上皮细胞不受影响^[63]。TGZ 和 ATRA 引起的 MCF-7 乳腺癌细胞凋亡和肿瘤纤维化还表现在 BNX 鼠的动物模型上。

3.4 Mlt(Melatonin)

Mlt、ATRA 单独或联合均可抑制 MCF-7 乳腺癌细胞增殖和诱导凋亡, 其凋亡通过 Bcl-2 基因家族蛋白的膜调节^[64]。Mlt 可以诱导生理浓度 ATRA 预处理后的 MCF-7 乳腺癌细胞凋亡。Mlt 和 9-cis-RA 联合治疗鼠乳腺癌模型具备协同作用^[65]。ATRA 和 Mlt 序贯治疗可抑制 MCF-7 乳腺癌细胞增殖和促进凋亡, 下调 Bcl-2, 上调 Bax 和 TGF- β 1 表达^[3]。

3.5 三苯氧胺和环孢霉素 A

ATRA 和三苯氧胺联合、ATRA 和三苯氧胺或干扰素联合均可增强 ATRA 诱导的人乳腺癌细胞生长抑制作用^[29]。联合应用三苯氧胺和维甲酸, 二者在阻止实验性大鼠乳腺癌发生过程中有显著的协同作用^[66]。

环孢霉素 A 能增强 4-HPR 诱导的 ER(+) 和 ER(-) 乳腺癌细胞的生长抑制和凋亡^[67]。

4 ATRA 耐药

用药后很快出现的耐药困扰着临床应用 ATRA。ATRA 对难治性、转移性乳腺癌患者的治疗效果不显著。Sutton 等^[68]用 ATRA 治疗 17 例患者仅有 1 例治疗 4 个月后有部分反应, 3 例分别于治疗 2、2、4 个月后病情稳定, 其余病情进展。耐药是由于 ATRA 代谢物所致, 抑制 ATRA 的代谢产物很有意义。R85246(Liarozole-fumarate) 是一种抗癌药, 能够抑制细胞色素 p450 依赖的 ATRA 代谢物产生。细胞色素 P450(CYPs) 能催化 ATRA 4 羟基化。ATRA 及其自然代谢物 4-oxo-ATRA, 5,6-epoxy-ATRA 和立体异构体 9-cis-RA、13-cis-RA 对 MCF-7 乳腺癌细胞具有抗增殖作用。R85246 可以增强 ATRA 或 ATRA 代谢物对 MCF-7 乳腺癌细胞的增殖抑制作用。R85246 本身不具有对 MCF-7 细胞增殖抑制作用, 表明 R85246 可以阻滞 ATRA 裂解, 抑制 4-oxo-ATRA 和 5,6-epoxy-ATRA 代谢^[69]。

5 乳腺癌的化学预防

维甲酸是化学预防乳腺癌很有前景的药物。Sporn^[70]首先提出肿瘤的化

学预防(chemoprevention)概念,其强调在肿瘤形成的早期阶段,甚至在临床表现之前采取措施。肿瘤形成是一个长期的多步骤过程。正常细胞由于生长调节基因及其产物的突变或损伤,最终形成浸润性和转移性的肿瘤。维甲酸化学预防的作用主要是针对肿瘤细胞的抗增殖作用,包括调节信号传导,调节激素和生长因子活性,抑制多胺代谢,诱导分化,诱导凋亡,抑制血管生成。

6 结语

对维甲酸抗增殖和促凋亡作用机制的深入研究可促进乳腺癌化学预防的临床应用。维甲酸和其他试剂的靶向治疗、确定维甲酸的作用模式、肿瘤相关基因的发现与功能鉴定、周期调控因子及信号传导通路的发现,将极大推动乳腺癌发病机制的研究,并提高乳腺癌的临床诊治水平。

【关键词】 维甲酸; 靶向治疗; 乳腺癌

【中图法分类号】 R737.9 【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Gudas L J. Retinoids, retinoid-responsive genes, cell differentiation, and cancer. *Cell Growth Differ*, 1992, 3: 655 – 662.
- [2] Evans R M. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 1988, 240: 889 – 895.
- [3] Eck K M, Yuan L, Duffy L, *et al*. A sequential treatment regimen with melatonin and all-trans retinoic acid induces apoptosis in MCF-7 tumour cells. *Br J Cancer*, 1998, 77: 2129 – 2137.
- [4] Van heusden J, Wouters W, Ramaekers F C, *et al*. All-trans-retinoic acid metabolites significantly inhibit the proliferation of MCF-7 human breast cancer cells *in vitro*. *Br J Cancer*, 1998, 77: 26 – 32.
- [5] Seewaldt V L, Caldwell L E, Johnson B S, *et al*. Inhibition of retinoic acid receptor function in normal human mammary epithelial cells results in increased cellular proliferation and inhibits the formation of a polarized epithelium *in vitro*. *Exp Cell Res*, 1997, 236: 16 – 28.
- [6] Fitzgerald P, Teng M, Chandraratna R A, *et al*. Retinoic acid receptor alpha expression correlates with retinoid-induced growth inhibition of human breast cancer cells regardless of estrogen receptor status. *Cancer Res*, 1997, 57: 2642 – 2650.
- [7] Sheikh M S, Shao Z M, Li X S, *et al*. Retinoid-resistant estrogen receptor-negative human breast carcinoma cells transfected with retinoic acid receptor-alpha acquire sensitivity to growth inhibition by retinoids. *J Biol Chem*, 1994, 269: 21 440 – 21 447.
- [8] Swisshelm K, Ryan K, Lee X, *et al*. Down-regulation of retinoic acid receptor beta in mammary carcinoma cell lines and its up-regulation in senescing normal mammary epithelial cells. *Cell Growth Differ*, 1994, 5: 133 – 141.
- [9] Zhang X K, Liu Y, Lee M O. Retinoid receptors in lung cancer and breast cancer. *Mutat Res*, 1996, 350: 267 – 277.
- [10] Liu Y, Lee M O, Wang H G, *et al*. Retinoic acid receptor beta mediates the growth-inhibitory effect of retinoic acid by promoting apoptosis in human breast cancer cells. *Mol Cell Biol*, 1996, 16: 1138 – 1149.
- [11] Li Y, Hashimoto Y, Agadir A, *et al*. Identification of a novel class of retinoic acid receptor beta-selective retinoid antagonists and their inhibitory effects on AP-1 activity and retinoic acid-induced apoptosis in human breast cancer cells. *J Biol Chem*, 1999, 274: 15 360 – 15 366.
- [12] Seewaldt V L, Johnson B S, Parker M B, *et al*. Expression of retinoic acid receptor beta mediates retinoic acid-induced growth arrest and apoptosis in breast cancer cells. *Cell Growth Differ*, 1995, 6: 1077 – 1088.
- [13] Shang Y, Baumrucker C R, Green M H. Signal relay by retinoic acid receptors alpha and beta in the retinoic acid-induced expression of insulin-like growth factor-binding protein-3 in breast cancer cells. *J Biol Chem*, 1999, 274: 18 005 – 18 010.
- [14] Hayashi K, Goodison S, Urquidi V, *et al*. Differential effects of retinoic acid on the growth of isogenic metastatic and non-metastatic breast cancer cell lines and their association with distinct expression of retinoic acid receptor beta isoforms 2 and 4. *Int J Oncol*, 2003, 22: 623 – 639.
- [15] Siwak D R, Mendoza Gamboa E, Tari A M. HER-2/*neu* uses Akt to suppress retinoic acid response element binding ac-

- tivity in MDA-MB-453 breast cancer cells. *Int J Oncol*,2003,23:1739 – 1745.
- [16] Tari A M, Lim S J, Hung M C, *et al* . HER-2/*neu* induces all-trans retinoic acid (ATRA) resistance in breast cancer cells. *Oncogene*,2002,21:5224 – 5232.
- [17] Lim S J, Gutierrez Puente Y, Tari A M. N-(4-hydroxyphenyl)-retinamide selectively increases All-TRANS retinoic acid inhibitory effects in HER-2/*neu*-overexpressing breast cancer cells. *Tumour Biol*,2002,23:279 – 286.
- [18] Chen T K, Smith L M, Gebhardt D K, *et al* . Activation and inhibition of the AP-1 complex in human breast cancer cells. *Mol Carcinog*,1996,15:215 – 226.
- [19] van der Burg B, Slager Davidov R, van der Leede B M, *et al* . Differential regulation of AP1 activity by retinoic acid in hormone-dependent and -independent breast cancer cells. *Mol Cell Endocrinol*,1995,112:143 – 152.
- [20] Zhou X F, Shen X Q, Shemshedini L. Ligandactivated retinoic acid receptor inhibits AP-1 transactivation by disrupting c-Jun/c-Fos dimerization. *Mol Endocrinol*,1999,13:276 – 285.
- [21] Strange K S, Wilkinson D, Emerman J T. Mitogenic properties of insulin-like growth factors I and II, insulin-like growth factor binding protein-3 and epidermal growth factor on human breast epithelial cells in primary culture. *Breast Cancer Res Treat*,2002,75:203 – 212.
- [22] Krajcik R A, Borofsky N D, Massardo S, *et al* . Insulin-like growth factor I (IGF- I), IGF-binding proteins and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*,2002,11:1566 – 1573.
- [23] Moschos S J, Mantzoros C S. The role of the IGF system in cancer: from basic to clinical studies and clinical applications. *Oncology*,2002,63:317 – 332.
- [24] Fontana J A, Burrows Mezu A, Clemmons D R, *et al* . Retinoid modulation of insulin-like growth factor binding proteins and inhibition of breast carcinoma proliferation. *Endocrinology*,1991,128:1115 – 1122.
- [25] Favoni R E, de Cupis A, Bruno S, *et al* . Modulation of the insulin-like growth factor- I system by N-(4-hydroxyphenyl)-retinamide in human breast cancer cell lines. *Br J Cancer*,1998,77:2138 – 2147.
- [26] Torrisi R, Parodi S, Pensa F, *et al* . Effect of fenretinide on plasma IGF- I and IGFBP-3 in early breast cancer patients. *Int J Cancer*,1998,76:787 – 790.
- [27] Schedlich L J, O'Han M K, Leong G M, *et al* . Insulin-like growth factor binding protein-3 prevents retinoid receptor heterodimerization; implications for retinoic acid-sensitivity in human breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*,2004,314:83 – 88.
- [28] Yang L, Ostrowski J, Reczek P, *et al* . The retinoic acid receptor antagonist, BMS453, inhibits normal breast cell growth by inducing active TGF beta and causing cell cycle arrest. *Oncogene*,2001,20:8025 – 8035.
- [29] Toma S, Raffo P, Nicolo G, *et al* . Biological activity of all-trans-retinoic acid with and without tamoxifen and alpha-interferon 2a in breast cancer patients. *Int J Oncol*,2000,17:991 – 1000.
- [30] Herbert B S, Sanders B G, Kline K. N-(4-hydroxyphenyl) retinamide activation of transforming growth factor-beta and induction of apoptosis in human breast cancer cells. *Nutr Cancer*,1999,34:121 – 132.
- [31] Roberson K M, Penland S N, Padilla G M, *et al* . Fenretinide: induction of apoptosis and endogenous transforming growth factor beta in PC-3 prostate cancer cells. *Cell Growth Differ*,1997,8:101 – 111.
- [32] Derynck R, Akhurst R J, Balmain A. TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression. *Nat Genet*,2001,29:117 – 129.
- [33] Teicher B A. Malignant cells, directors of the malignant process: role of transforming growth factor-beta. *Cancer Metastasis Rev*,2001,20:133 – 143.
- [34] Reveneau S, Arnould L, Jolimoy G, *et al* . Nitric oxide synthase in human breast cancer is associated with tumor grade, proliferation rate and expression of progesterone receptors. *Lab Invest*,1999,79:1215 – 1225.
- [35] Simeone A M, Ekmekcioglu S, Broemeling L D, *et al* . A novel mechanism by which N-(4-hydroxyphenyl) retinamide inhibits breast cancer cell growth: the production of nitric oxide. *Mol Cancer Therap*,2002,1:1009 – 1017.
- [36] Maurer B J, Melton L, Billups C, *et al* . Synergistic cytotoxicity in solid tumor cells lines between N-(4-hydroxyphenyl) retinamide and modulators of ceramide metabolism. *J Natl Cancer Inst*,2000,92:1897 – 1909.
- [37] Wang T T, Phang J M. Effect of N-(4-hydroxyphenyl) retinamide on apoptosis in human breast cancer cells. *Cancer Lett*,1996,107:65 – 71.
- [38] DiPietrantonio A M, Hsieh T C, Juan G, *et al* . Fenretinide-induced caspase 3 activity involves increased protein stability in a mechanism distinct from reactive oxygen species elevation. *Cancer Res*,2000,60:4331 – 4335.
- [39] Panigone S, Debernardi S, Taya Y, *et al* . pRb and Cdk regulation by N-(4-hydroxyphenyl) retinamide. *Oncogene*,

- 2000,19:4035 – 4041.
- [40] Teixeira C, Pratt M A C. CDK2 is a target for retinoic acid-mediated growth inhibition in MCF-7 human breast cancer cells. *Mol Endocrinol*,1997,11:1191 – 1202.
- [41] Zhou Q, Stetler Stevenson M, Steeg P S. Inhibition of cyclin D expression in human breast carcinoma cells by retinoids in vitro. *Oncogene*,1997,15:107 – 115.
- [42] Seewaldt V L, Kim J H, Parker M B, *et al* . Dysregulated expression of cyclin D1 in normal human mammary epithelial cells inhibits all-trans-retinoic acid-mediated G₀/G₁-phase arrest and differentiation in vitro. *Exp Cell Res*,1999,249:70 – 85.
- [43] Dietze E C, Caldwell L E, Marcom K, *et al* . Retinoids and retinoic acid receptors regulate growth arrest and apoptosis in human mammary epithelial cells and modulate expression of CBP/P300. *Microsc Res Tech*,2002,59:23 – 40.
- [44] Sanli U A, Uslu R, Karabulut B, *et al* . Alterations in the activity and expression of serine/threonine protein phosphatases during all trans retinoic acid-induced apoptosis in breast cancer cells. *Oncol Rep*,2003,10:2083 – 2088.
- [45] Nakagawa S, Fujii T, Yokoyama G, *et al* . Cell growth inhibition by all-trans retinoic acid in SKBR-3 breast cancer cells: involvement of protein kinase C alpha and extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase. *Mol Carcinog*,2003,38:106 – 116.
- [46] Poot M, Hosier S, Swisshelm K. Distinct patterns of mitochondrial changes precede induction of apoptosis by all-trans-retinoic acid and N-(4-hydroxyphenyl)retinamide in MCF-7 breast cancer cells. *Exp Cell Res*,2002,279:128 – 140.
- [47] Mangiarotti R, Danova M, Alberici R, *et al* . All-trans retinoic acid (ATRA)-induced apoptosis is preceded by G1 arrest in human MCF-7 breast cancer cells. *Br J Cancer*,1998,77:186 – 191.
- [48] Seewaldt V L, Dietze E C, Johnson B S, *et al* . Retinoic acid-mediated G₁ – S-phase arrest of normal human mammary epithelial cells is independent of the level of P53 protein expression. *Cell Growth Differ*,1999,10:49 – 59.
- [49] Baj G, Arnulfo A, Deaglio S, *et al* . All-trans retinoic acid inhibits the growth of breast cancer cells by up-regulating ICAM-1 expression. *J Biol Regul Homeost Agents*,1999,13:115 – 122.
- [50] Shang Y, Baumrucker C R, Green M H. The induction and activation of STAT1 by all-trans-retinoic acid are mediated by RAR beta signaling pathways in breast cancer cells. *Oncogene*,1999,18:6725 – 6732.
- [51] Offterdinger M, Schneider S M, Huber H, *et al* . Retinoids control the expression of C-erbB receptors in breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*,1998,251(3):907 – 913.
- [52] Sapi E, Flick M B, Tartaro K, *et al* . Effect of all-trans-retinoic acid on c-fms proto-oncogene [colony-stimulating factor 1 (CSF-1) receptor] expression and CSF-1-induced invasion and anchorage-independent growth of human breast carcinoma cells. *Cancer Res*,1999,59:5578 – 5585.
- [53] Yan W, Li Q, Zhu F. Apoptosis-related genes cloned by improved subtractive hybridization. *Chin J Oncol*,2001,23:193 – 195.
- [54] Ye X, Wu Q, Liu S, *et al* . Distinct role and functional mode of TR3 and RARalpha in mediating ATRA-induced signaling pathway in breast and gastric cancer cells. *Int J Biochem Cell Biol*,2004,36:98 – 113.
- [55] Wang Q, Lee D, Sysounthone V, *et al* . 1,25 – dihydroxyvitamin D3 and retonic acid analogues induce differentiation in breast cancer cells with function- and cell-specific additive effects. *Breast Cancer Res Treat*,2001,67:157 – 168.
- [56] Green S , Chambon P. Nuclear receptors enhance our understanding of transcriptionregulation. *Trends Genet*,1988,4:309 – 314.
- [57] Koshizuka K, Kubota T, Said J, *et al* . Combination therapy of a vitamin D3 analog and all-trans-retinoic acid: effect on human breast cancer in nude mice. *Anticancer Res*,1999,19(1A):519 – 524.
- [58] Wang Q, Yang W, Uytingco M S, *et al* . 1,25 – Dihydroxyvitamin D3 and all-trans-retinoic acid sensitize breast cancer cells to chemotherapy-induced cell death. *Cancer Res*,2000,60:2040 – 2048.
- [59] Widschwendter M, Daxenbichler G, Bachmair F, *et al* . Interaction of retinoic acid and interferon-alpha in breast cancer cell lines. *Anticancer Res*,1996,16:369 – 374.
- [60] Widschwendter M, Daxenbichler G, Culig Z, *et al* . Activity of retinoic acid receptor-gamma selectively binding retinoids alone and in combination with interferon-gamma in breast cancer cell lines. *Int J Cancer*,1997, 71:497 – 504.
- [61] Liu H, Zang C, Fenner M H, *et al* . PPARgamma ligands and ATRA inhibit the invasion of human breast cancer cells in vitro. *Breast Cancer Res Treat*,2003,79:63 – 74.
- [62] Elstner E, Williamson E A, Zang C, *et al* . Novel therapeutic approach: ligands for PPAR gamma and retinoid receptors induce apoptosis in bcl-2 – positive human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*,2002,74:155 – 165.

- [63] Elstner E, Muller C, Koshizuka K, *et al*. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptor γ and retinoic acid receptor inhibit growth and induce apoptosis of human breast cancer cells in vitro and in BNX mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95: 8806 – 8811.
- [64] Eck Enriquez K, Kiefer T L, Spriggs L L, *et al*. Pathways through which a regimen of melatonin and retinoic acid induces apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*, 2000, 61: 229 – 239.
- [65] Nowfar S, Teplitzky S R, Melancon K, *et al*. Tumor prevention by 9-cis-retinoic acid in the N-nitroso-N-methylurea model of mammary carcinogenesis is potentiated by the pineal hormone melatonin. *Breast Cancer Res Treat*, 2002, 72: 33 – 43.
- [66] 韩晓蓉, 原莉莉, 张毅, 等. 三苯氧胺联合全反式维甲酸对大鼠乳腺癌的预防作用. *第三军医大学学报*, 2002, 23: 910 – 912.
- [67] Lim S J, Simeone A M, Kim C K, *et al*. Cyclosporin A enhances the apoptotic effects of N-(4-hydroxyphenyl)retinamide in breast cancer cells. *Int J Cancer*, 2002, 101: 243 – 247.
- [68] Sutton L M, Warmuth M A, Petros W P, *et al*. Pharmacokinetics and clinical impact of all-trans retinoic acid in metastatic breast cancer: a phase II trial. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1997, 40: 335 – 341.
- [69] Van heusden J, Wouters W, Ramaekers F C, *et al*. The antiproliferative activity of all-trans-retinoic acid catabolites and isomers is differentially modulated by liarozole-fumarate in MCF-7 human breast cancer cells. *Br J Cancer*, 1998, 77: 1229 – 1235.
- [70] Sporn M B, Dunlop N M, Newton D L, *et al*. Prevention of chemical carcinogenesis by vitamin A and its synthetic analogs (retinoids). *Fed Proc*, 1976, 35: 1332 – 1338.

(收稿日期: 2007-04-02)

(本文编辑: 谢竞)