

· 综述 ·

CD24 与乳腺癌关系的研究进展

庄建良 黄荣金 许荣誉 潘群雄

人类 CD24 是染色体 6q21 基因编码的膜糖蛋白,相对分子质量介于 $(28 \sim 75) \times 10^3$ 之间,由 27 ~ 30 个氨基酸残基组成短肽骨架结构,羧基末端信号肽切除后通过磷脂酰肌醇(GPI)锚定在细胞膜表面的脂筏。正常生理条件下 CD24 主要在造血细胞以及脑组织中表达。生物学功能研究表明其可调节淋巴细胞发育成熟^[1],参与神经网络的形成^[2],以及与细胞型别依赖的不同配体结合维持机体免疫自稳及调控免疫应答^[3]。但这些研究仍存在许多疑问,例如已鉴定的 CD24 配体(包括 P-选择素、CD171、VLA-4 和 VCAM-1 等)无法解释其参与淋巴细胞增殖和凋亡以及提供协同刺激作用的分子机制;CD24 参与信号传递途径的信号肽及其下游分子尚不明;定位于细胞膜表面脂筏微结构的 CD24 与其他相邻结构的密切关系是通过何种机制相互影响等。进一步深入研究发现,人类组织器官多种肿瘤可见 CD24 异常表达,CD24 在肿瘤的生长发展演进过程中发挥的重要作用受到普遍关注。本文就 CD24 与乳腺癌关系的最新研究情况作一概述。

1 CD24 在乳腺癌的表达及其与乳腺癌发生发展的关系

1.1 CD24 与乳腺肿瘤细胞生长增殖

Baumann 等^[4]应用实验性动物模型对 CD24 促进肿瘤细胞增殖的能力进行研究,发现乳腺癌 MTLy 细胞株(CD24 阳性)的增殖速度明显比 MTLyCD24 mut(CD24 阴性)细胞株快。而 Smith 等^[5]在敲除 CD24 基因的乳腺癌 MCF-7 细胞株实验中也发现 CD24 在乳腺肿瘤细胞株增殖中起关键作用。并且有关膀胱上皮癌 UM-UC-3 及宫颈癌 HeLa 细胞株的实验发现,在基因和蛋白水平随 RalA/RalB 下调 CD24 亦显著降低。已有研究认为 RalA/RalB 是 Ras 小 G 蛋白超家族成员(Ras GTPase),通过活化 Jun、NF- κ B、AFX、TCF 等信号传导途

基金项目:福建省泉州市科技计划基金(2007Z27)

作者单位:362000 泉州,福建医科大学附属泉州第一医院肿瘤外科

通讯作者:庄建良, E-mail: hrongjin2008@126.com

径分子参与肿瘤发生和细胞增殖因而推测 CD24 可能作为 Ral GTPase 下游分子参与信号传导途径调节肿瘤细胞的增殖与存活。但是, Ral 分子如何影响 CD24 分子依然不清楚。最近 Kim 等^[6]利用流式细胞仪分选乳腺癌 MCF-7 细胞株中高表达 CD24(CD24^{high})细胞亚群和低表达 CD24(CD24^{low/-})细胞亚群, 结果: CD24^{high}亚群增殖速度明显比 CD24^{low/-}亚群快; 而且细胞周期分析显示, 相比 CD24^{low/-}亚群, CD24^{high}亚群细胞体 DNA 合成期(S 期)细胞数比例更高, 静止期细胞数更低, 进一步的研究表明高表达 CD24 促进肿瘤细胞增殖可能与下调细胞周期调节基因 P27 有关; P27 能够与 D 型细胞周期素(cyclin D)及周期素依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDK)结合阻滞细胞自 G₁ 期进入 S 期。而且, 有学者研究胚胎组织的形体构建(morphogenesis)和成体组织稳态驱动(homeostatic)的细胞增殖再生过程发现, 鼠 CD24(mCD24)能够通过调控短暂扩增细胞(transit-amplifying cell)和分化细胞(committed differentiated cell)数量, 维持角膜、皮肤表皮及脑组织干细胞增殖与分化平衡^[7]。这些证据充分表明 CD24 具有促进乳腺肿瘤细胞生长增殖的特性。

1.2 CD24 与乳腺肿瘤细胞的侵袭、转移

目前已有多个研究小组确定 CD24 作为一种细胞黏附分子通过与其配体 P-选择素结合介导细胞克服血流的剪切应力迁移和附壁, 引导肿瘤细胞在血管壁“滚动”, 导致肿瘤的远处转移^[8-10]。Friederichs 等^[10]利用体内转染技术使经 sialylLex 修饰的 CD24 作为一个功能性 P-选择素配体表达于乳腺癌细胞, 发现可明显增强 P-选择素依赖的肿瘤细胞与内皮细胞黏附, 以及在小鼠肺内迁移滞留和集落的形成与增殖。Baumann 等^[4]的研究也发现与 MTLy 细胞(表达有 CD24 的小鼠乳腺癌细胞株)相比, MTLyCD24mut 细胞株(未表达 CD24 的小鼠乳腺癌细胞株)与 P-选择素的结合力较弱, 直接诱导 MTLyCD24mut 细胞株表达 CD24 将显著增强与其 P-选择素的结合能力; 进一步研究证明, CD24 还间接激活 $\alpha 3 \beta 1$ 和 $\alpha 4 \beta 1$ 整合素与纤维黏连蛋白(fibronectin, FN)、I 型和 IV 型胶原蛋白(collagen, CA)及层黏连蛋白(laminin, LM)等细胞外基质(ECM)成分结合, 而且活化的整合素能够调控肿瘤细胞的增殖、迁徙和转移等生物学行为。

整合素的激活形式包括上调细胞表面异二聚体整合素的表达水平、增强整合素与配体 ECM 成分的亲合性及诱导整合素在细胞膜表面脂筏微结构的簇集(clusteririg)。Runz 等^[11]通过建立 CD24 基因稳定转染肺癌 A125 细胞株及乳腺癌 MDA-MB-435S 细胞株模型, 深入研究发现基因转染稳定表达 CD24

后细胞株的黏附能力和迁移能力明显增强,其活化整合素机制可能是增强整合素和配体的结合力及诱导异二聚体整合素 $\beta 1$ 亚单位在脂筏的簇集,而不影响整合素的表达水平。那么 CD24 是否也影响细胞表面其他分子结构呢? Schabath 等^[12]以乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系为研究对象,观察同位于肿瘤细胞膜脂筏微结构的 CD24 与趋化因子受体 CXCR4 表达水平的相互关系,结果 CD24 在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系表达增高可清除同存于脂筏的 CXCR4。已知 CXCR4 广泛表达于人类肿瘤如乳腺癌等,而肺、肝脏等癌细胞转移的主要靶器官则高表达其配体 CXCL12,因而随 CD24 的表达增加,经由 CXCL12/CXCR4 介导的细胞信号传导减少,导致肿瘤细胞的迁移明显减弱。这也许表明 CD24 与其他相邻结构相互作用的效应具有细胞型别依赖。鉴于具有 GPI 锚定细胞膜表面脂筏的结构特点,因此深入研究 CD24 如何调控细胞内外信号传递机制有着十分重要的意义。

Baumann 等^[4]同时发现诱导 CD24 表达能稳定和磷酸化黏着斑激酶 (FAK),抑制 FAK 分解。而 FAK 被认为是整合素依赖性信号转导通路的基础分子,在整合素介导的信号转导途径中起着关键作用,激活后的 FAK 能够通过 Ras-MAPK/PI-3K 等信号传导通路增强肿瘤细胞的侵袭转移能力,所以 CD24 调控肿瘤转移的作用可能也与 FAK 相关。Baumann 等的研究也证实 CD24 可促进肿瘤的侵袭,在覆盖纤维连接素的培养基中观察 MTLy 细胞株的运动发现 CD24 阳性细胞迅速与基质附着,且扩散速度明显较快。最近 Kim 等^[6]的研究也表明 CD24^{high} 乳腺癌细胞株比 CD24^{low/-} 乳腺癌细胞株具有更强的黏附性和侵袭能力。

1.3 CD24 在乳腺癌组织中的异常表达与临床病理特征的关系

已有许多研究表明在造血系统及器官实体瘤如肾细胞癌、非小细胞肺癌、鼻咽癌、原发性肝细胞癌、胆管细胞癌、麦克尔细胞癌、神经源性肿瘤和胰腺癌、胃癌、大肠癌、乳腺癌等肿瘤组织中 CD24 蛋白表达明显增强,且和肿瘤侵袭转移、复发及预后密切相关。在正常乳腺实质,CD24 主要表达于萎缩导管上皮细胞膜^[13],而乳腺良性肿瘤 CD24 的胞膜表达 (CD24m) 增强,乳腺癌 CD24 表达模式主要为胞质、胞膜 (CD24c-m) 表达,并与肿瘤病理分级正相关,推测为组织细胞恶变失去正常的排列结构和极向导致 CD24 表达模式改变^[14]。最近 Bircan 等^[15]通过检测正常乳腺组织、乳腺导管原位癌及浸润性乳腺导管癌 CD24 表达水平亦显示其表达逐渐增强。这些均表明 CD24 可能参与乳腺癌的肿瘤形成和恶性转化过程。并且, Kristiansen 等^[13,16]的侵袭性

乳腺癌组织石蜡切片研究结果显示 CD24^{c-m} 染色与乳腺癌淋巴结转移、高病理分期明显相关,但未发现 CD24 表达强度与乳腺癌患者年龄、肿瘤大小、类型及分级有关联,也未发现与雌二醇和 C-erbB-2 表达水平有相关性;CD24 胞质、胞膜阳性患者生存率明显降低且病情恶化的风险较阴性者高;通过术后辅助治疗分组实验,他们发现在术后辅助内分泌治疗、放射治疗及未进行化疗患者 CD24^m 阳性较 CD24^{c-m} 阳性患者的生存期延长,病情恶化的风险低。因此,CD24 亦与乳腺肿瘤临床病理参数及患者预后密切相关。

2 CD24 与乳腺肿瘤干细胞的关系

近年提出的肿瘤干细胞(tumor-initiating cell, TSC)学说认为肿瘤组织中存在极少量干细胞特性的瘤细胞亚群,具有自我更新和进一步分化克隆、增殖的潜能,在启动肿瘤形成和生长中起着决定性作用,是肿瘤生长、转移和复发的根源。而且越来越多研究表明 TSC 起源于正常组织干细胞,与正常干细胞具有相似的细胞表面标志和相同的信号转导通路。Kordon 等将鼠乳腺上皮移植进清除脂肪垫的乳腺,并对几个移植后代分析发现整个乳腺组织能由单个原始细胞克隆,提示在成年乳腺中存在能分化为整个乳腺上皮细胞的干细胞^[17]。而且,有研究通过侧群细胞(side-population cell, SP)分选法和溴尿嘧啶(BrdU)标志物示踪法也分离鉴定出乳腺干细胞^[18]。最近 Shackleton 和 Stingl 等^[19-20]的研究先后利用细胞表面标志抗原分离出乳腺干细胞亚群的分子标志“CD45⁻Ter119⁻CD31⁻CD49^{hi}CD24^{med}”和“Lin-CD29^{high}CD24⁺”。由于 TSC 具有与正常干细胞相似的表面标志,因此能结合正常干细胞特异性标志蛋白。Cho 等^[21]通过建立 Wnt 转基因小鼠的乳腺癌模型,根据细胞表面标志利用流式细胞仪分选出不同细胞亚群,再通过体外成瘤能力检测鉴定出带“Thy1⁺CD24⁺”分子标志的具有干细胞特性的乳腺肿瘤细胞,并且 Thy1⁺CD24⁺细胞亚群经小鼠体内传代,自我更新和成瘤能力不变,每代均可重新形成包含干细胞和非干细胞表型的异质性细胞群体。然而,之前 Al Hajj 等^[22]建立了一个肿瘤发生模型,亦根据细胞表面标志利用流式细胞仪从人乳腺癌组织或胸水转移癌细胞中分选出不同的细胞亚群,并接种于缺乏免疫的 NOD/SCID 老鼠乳腺脂肪垫内。他们分离出乳腺癌干细胞亚群的表面标志为“CD44⁺CD24⁻ESA⁻Lin⁻”。不同的研究小组得到不一致的观察结果,乳腺癌肿瘤干细胞特异细胞表面标志物的讨论仍在进行。但是,这些实验足以说明 CD24 在乳腺肿瘤恶性转化、形成及生长增殖演进中的地位,未来的研究也许

可深入探讨 CD24 在乳腺正常干细胞和肿瘤干细胞信号转导途径中的不同调控机制。

3 CD24 与乳腺癌雌激素受体的关系

利用抑制性差减杂交(suppression subtractive hybridization, SSH)技术和 cDNA 基因芯片技术, Yang 等^[23]筛选出乳腺癌雌激素受体(ER)阳性细胞株(MCF7 和 T47D)与 ER 阴性细胞株(MDA-MB-231 和 HBL-100)差异表达基因,发现 ER 阳性细胞株中 CD24 过量表达, Northern blot 分析证实相比于雌激素受体 ER 阴性乳腺癌细胞株, ER 阳性细胞株 CD24mRNA 表达明显增强,而且流式细胞技术和免疫荧光技术分析也证实 CD24 蛋白在 ER 阳性细胞株中过表达。然而, Sorbello 等^[24]通过 RT-PCR 技术研究发现, ER 阳性的 18 例侵袭性乳腺癌患者的 CD24mRNA 水平明显比 ER 阴性组低,表明侵袭性乳腺癌 ER 表达水平可以下调 CD24 表达,二者呈反向关系。Surowiak 等^[25]利用免疫细胞化学的方法检测了 60 例术后接受内分泌治疗(三苯氧胺)的侵袭性乳腺癌 ER 蛋白与 CD24 蛋白表达水平的相关性,也证实了上述实验结果,而且 CD24c-m 表达者的生存时间明显缩短;多变量分析表明 CD24 是乳腺癌一个独立预后指标,实验结果也提示其可以作为衡量患者内分泌治疗效果差的指标。鉴于目前乳腺癌 CD24 与 ER 关系尚存在争议,也许深入研究 CD24 及 ER 在乳腺癌发生、发展中的地位及相互作用的机制能够提供很好的切入点。

4 结语

CD24 作为一种细胞膜表面的膜糖蛋白,通过 GPI 锚定在细胞膜表面脂筏上,既参与了细胞间黏附过程,又在细胞内信号传导过程中发挥调控作用。虽然 CD24 在人类肿瘤特别是目前研究较多的乳腺癌发生、发展中的作用仍有分歧,但更多数据支持 CD24 促进肿瘤细胞生长增殖、侵袭及转移等生物学行为,并与预后密切相关。因此,CD24 有望成为一个非常有吸引力的肿瘤生物治疗靶点。已有体外细胞实验应用抗 CD24 的单克隆抗体以时间和剂量依赖的方式抑制表达 CD24 的胰腺癌 Colo-357、Panc1 细胞株和结肠癌 HT-29 细胞系的生长,但主要取决于这些细胞 CD24 的表达水平^[26]。临床实验联合应用抗 CD24 和抗 CD21 特异性单克隆抗体治疗移植相关的 B 细胞增殖综合征已取得初步成效^[27]。所以,有关 CD24 在乳腺癌诊治中的作用值得更进一步研究。

【关键词】 CD24;乳腺癌

【中图法分类号】 R737.9 【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Lu L, Smithson G, Kincade P W, *et al.* Two models of murine B lymphopoiesis: a correlatio. *Eur J Immunol*, 1998, 28:1755 – 1761.
- [2] Kadmon G, Eckert M, Sammar M, *et al.* Nectadrin, the heat-stable antigen, is a cell adhesion molecule. *J Cell Biol*, 1992, 118:1245 – 1258.
- [3] Liu Y, Zheng P. CD24: a genetic checkpoint in T-cell homeostasis and autoimmune diseases. *Trends Immunol*, 2007, 28:315 – 320.
- [4] Baumann P, Cremers N, Kroese F, *et al.* CD24 expression causes the acquisition of multiple cellular properties associated with tumor growth and metastasis. *Cancer Res*, 2005, 65:10 783 – 10 793.
- [5] Smith S C, Oxford G, Wu Z, *et al.* The metastasis-associated gene CD24 is regulated by Ral GTPase and is a mediator of cell proliferation and survival in human cancer. *Cancer Res*, 2006, 66:1917 – 1922.
- [6] Kim H J, Kim J B, Lee K M, *et al.* Isolation of CD24 (high) and CD24 (low/-) cells from MCF-7: CD24 expression is positively related with proliferation, adhesion and invasion in MCF-7. *Cancer Lett*, 2007, 258:98 – 108.
- [7] Nieoullon V, Belvindrah R, Rougon G, *et al.* Mouse CD24 is required for homeostatic cell renewal. *Cell Tissue Res*, 2007, 329:457 – 467.
- [8] Aigner S, Ruppert M, Hubbe M, *et al.* Heat stable antigen (mouse CD24) supports myeloid cell binding to endothelial and platelet P-selectin. *Int Immunol*, 1995, 7:1557 – 1565.
- [9] Aigner S, Sthoeger Z M, Fogel M, *et al.* CD24, a mucin-type glycoprotein, is a ligand for P-selectin on human tumor cells. *Blood*, 1997, 89:3385 – 3395.
- [10] Friederichs J, Zeller Y, Hafezi Moghadam A, *et al.* The CD24/P selectin binding pathway initiates lung arrest of human A125 adenocarcinoma cells. *Cancer Res*, 2000, 60:6714 – 6722.
- [11] Runz S, Mierke C T, Joumaa S, *et al.* CD24 induces localization of beta1 integrin to lipid raft domains. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 365:35 – 41.
- [12] Schabath H, Runz S, Joumaa S, *et al.* CD24 affects CXCR4 function in pre-B lymphocytes and breast carcinoma cells. *J Cell Sci*, 2006, 119:314 – 325.
- [13] Kristiansen G, Winzer K J, Mayordomo E, *et al.* CD24 expression is a new prognostic marker in breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2003, 9:4906 – 4913.
- [14] Fogel M, Friederichs J, Zeller Y, *et al.* CD24 is a marker for human breast carcinoma. *Cancer Lett*, 1999, 143:87 – 94.
- [15] Bircan S, Kapucuoglu N, Baspinar S, *et al.* CD24 expression in ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of breast: an immunohistochemistry-based pilot study. *Pathol Res Pract*, 2006, 202:569 – 576. [16] Surowiak P, Materna V, Györfy B, *et al.* Multivariate analysis of oestrogen receptor alpha, PS₂, metallothionein and CD24 expression in invasive breast cancers. *Br J Cancer*, 2006, 95:339 – 346.
- [17] Kordon E C, Smith G H. An entire functional mammary gland may comprise the progeny from a single cell. *Development*, 1998, 125:1921 – 1930.
- [18] Kalirai H, Clarke R B. Human breast epithelial stem cells and their regulation. *J Pathol*, 2006, 208:7 – 16.
- [19] Shackleton M, Vaillant F, Simpson K J, *et al.* Generation of a functional mammary gland from a single stem cell. *Nature*, 2006, 439:84 – 88.
- [20] Stingl J, Eirew P, Ricketson I, *et al.* Purification and unique properties of mammary epithelial stem cells. *Nature*, 2006, 439:

993 – 997.

- [21] Cho R W, Wang X, Diehn M, *et al.* Isolation and Molecular characterization of cancer stem cells in MMTV-Wnt-1 murine breast tumors. *Stem Cells*, 2007, Epub ahead of print.
- [22] Al Hajj M, Wicha M S, Benito Hernandez A, *et al.* Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100:3983 – 3988.
- [23] Yang G P, Ross D T, Kuang W W, *et al.* Combining SSH and cDNA microarrays for rapid identification of differentially expressed genes. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27:1517 – 1523.
- [24] Sorbello V, Fuso L, Sfiligoi C, *et al.* Quantitative real-time RT-PCR analysis of eight novel estrogen-regulated genes in breast cancer. *Int J Biol Markers*, 2003, 18:123 – 129.
- [25] Surowiak P, Materna V, Paluchowski P, *et al.* CD24 expression is specific for tamoxifen-resistant ductal breast cancer cases. *Anticancer Res*, 2006, 26:629 – 634.
- [26] Sagiv E, Memeo L, Karin A, *et al.* CD24 is a new oncogene, early at the multistep process of colorectal cancer carcinogenesis. *Gastroenterology*, 2006, 131:630 – 639.
- [27] Benkerrou M, Jais J P, Leblond V, *et al.* Anti-B-cell monoclonal antibody treatment of severe posttransplant B-lymphoproliferative disorder: prognostic factors and long-term outcome. *Blood*, 1998, 92:3137 – 3147.

(收稿日期:2007-12-05)

(本文编辑:罗承丽)

庄建良, 黄荣金, 许荣誉, 等. CD24 与乳腺癌关系的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2008, 2(1):81 – 87.