

## · 综述 ·

ER $\alpha$  磷酸化与乳腺癌内分泌疗效关系的研究进展

徐东宏 范忠林 耿翠芝 胡崇珠

激素依赖性乳腺癌的内分泌治疗在乳腺癌的综合治疗中占有不可替代的地位。它以确切的疗效,相对较轻的毒副作用,加之低廉的费用,促使其被广泛应用于各期乳腺癌的治疗及乳腺癌高危人群的预防。然而,并不是所有的激素依赖性乳腺癌对内分泌治疗均敏感。以往的研究发现,雌孕激素受体状况不明者的内分泌治疗有效率为 20%~30%,ER 阳性者为 50%~60%,ER、PR 均阳性者为 75% 以上<sup>[1]</sup>。临床治疗中有部分 ER/PR 阳性患者对内分泌治疗不敏感。那么,是否有更精确的预测内分泌疗效的指标呢?

近期研究发现,ER $\alpha$  是类固醇激素受体超家族成员之一,是一类可被磷酸化的受体。磷酸化与受体的功能有关,所以磷酸化的 ER $\alpha$  可能有助于预测内分泌治疗的反应性。下面就这一问题作一综述。

## 1 ER $\alpha$ 的结构与功能

ER $\alpha$  是转录因子核受体超家族中的一员,这种转录因子通过与小的亲脂分子结合而被激活。人类 ER $\alpha$  基因包括 14 万个碱基对,位于 6 号染色体长臂上,其中 8 个外显子编码 595 个氨基酸的蛋白,该蛋白定位于核内,相对分子质量为 67 000,同别的核受体超家族成员一样,ER $\alpha$  自氨基端到羧基端有 A/B、C、D、E、F 五个功能区。ER $\alpha$  氨基端之 A/B 功能区由 180 个氨基酸组成,并非高度保守,含有非激素依赖激活功能区 1 (activation function-1, AF-1); 另一激素依赖的激活功能区 2 ((activation function-2, AF-2) 位于 E 区。AF-1 可不依赖 AF-2 完成活化功能,但多种情况下 AF-1 和 AF-2 起协同作用<sup>[2]</sup>。C 功能区包括 83 个氨基酸,其为 DNA 结合区 (DNA binding domain, DBD)。有关缺失突变的研究证实 C 功能区的 DNA 结合区和 DNA 上雌激素反应元件

(estrogen response element, ERE) 结合。C-D 交界区称为联结区, 其和热休克蛋白 90(hsp90) 相关。Hsp90 和 ER 结合代表了非活化状态, 可维持游离 ER $\alpha$  的稳定性, 并与激素受体对激素的高亲和力有关, 配体和 ER $\alpha$  结合后 Hsp90 即与 ER $\alpha$  解离。E 区(302 ~ 533 氨基酸) 是最大的功能区, 也是最保守的部位。该区含有配体结合区(ligand binding domain, LBD), 有激素依赖性转录活性功能。目前已清楚, ER $\alpha$  激动剂和 ER $\alpha$  拮抗剂能诱导不同的 LBD 的构型变化, 导致不同的转录方式, 表现为不同的功能。羧基末端的 F 区在核受体超家族中并不保守, 其功能尚未完全清楚。

## 2 ER $\alpha$ 磷酸化

ER $\alpha$  是一个配体激活转录因子, AF-2 的活性通过与雌二醇结合调节, 而 AF-1 的活性可以通过几个位点的磷酸化调节。ER $\alpha$  的磷酸化位点主要包括: Ser<sup>104</sup>、Ser<sup>106</sup>、Ser<sup>118</sup>、Ser<sup>167</sup>、Ser<sup>236</sup>、Tyr<sup>537</sup> [3-7]。其中 Ser<sup>104</sup>、Ser<sup>106</sup>、Ser<sup>118</sup>、Ser<sup>167</sup> 都位于 ER $\alpha$ N 末端区域激活功能区 AF-1, Ser<sup>236</sup> 位于 DBD 区, Tyr<sup>537</sup> 位于 LBD 区, 活体内 Tyr<sup>537</sup> 磷酸化状态仍有争议。

尽管 ER $\alpha$  的各个位点磷酸化的功能及有关激酶的认知还不确切, 但确实发现磷酸化影响 ER $\alpha$  的功能, 其中包括 ER $\alpha$  的转录激活功能、ER $\alpha$  与 DNA 和配体结合的能力以及 ER $\alpha$  的再循环利用等。如人 ER Tyr<sup>537</sup> 的磷酸化可调节 ER 的二聚体化和 DNA 结合能力; Ser<sup>118</sup> 磷酸化可调节 ER 的转录激活功能; Ser<sup>167</sup> 的磷酸化可加强 ER 与 DNA 的结合。并且, 在不同细胞中及对不同的启动子来说, 磷酸化所起作用不同。在 MCF-7 细胞中, 167 位的丝氨酸是最重要的磷酸化位点, 若此位点的丝氨酸突变成丙氨酸, ER $\alpha$  转录活性降低 70%, 与 DNA 的结合力下降 10 倍; 而在 COS-1 细胞中, 118 位的丝氨酸是最重要的磷酸化位点, 若此位点突变成丙氨酸, ER $\alpha$  的转录活性下降 30 ~ 40% [8]。总之, ER $\alpha$  的活性受磷酸化调节, 但调节机制尚需进一步研究。

## 3 ER $\alpha$ 磷酸化与乳腺癌内分泌疗效的关系

正常乳腺上皮细胞含有多种激素受体, 如 ER、PR 等。乳腺的正常生长发育有赖于多种激素的协调作用。乳腺组织细胞发生癌变后, 如癌细胞仍保留全部或部分激素受体, 并具有功能, 则该乳腺癌的生长、增殖仍受激素的调

控,称为激素依赖性乳腺癌;如癌细胞丢失了激素受体,则其生长、增殖不受激素的调控,称为非激素依赖性乳腺癌。促进激素依赖性乳腺癌生长的主要是雌二醇。雌激素主要通过由 ER 介导的基因转录促使癌细胞增殖,并通过影响垂体和其他内分泌器官分泌多肽激素或其他因子而间接影响乳腺癌生长。乳腺癌内分泌治疗的机制是改变激素依赖性肿瘤生长所需的内分泌微环境,阻止肿瘤细胞的增殖,加速凋亡,从而使肿瘤缩小,病情得以缓解。现有的内分泌治疗方法包括手术治疗和药物治疗。目前常用的内分泌治疗药物主要有抗雌激素制剂、孕酮制剂、芳香化酶抑制剂、促黄体激素释放激素类似物等。其中抗雌激素药物三苯氧胺的问世是乳腺癌内分泌治疗的里程碑。

### 3.1 ER $\alpha$ 磷酸化与三苯氧胺耐药

20 世纪 70 年代,三苯氧胺开始应用于乳腺癌的辅助治疗。它是一种非甾体类、选择性雌激素受体调节剂 ( Selective estrogen receptor modulars, SERMs ), 可以与雌激素竞争 ER $\alpha$  结合点。ER $\alpha$  同三苯氧胺结合后仍然结合到 ERE, 但这种结合同雌激素-ER $\alpha$  复合物与 ERE 结合相比较引起的 DNA 空间构型变化不同,三苯氧胺阻碍了 ER $\alpha$  的激素结合区 ( HBD ) 正确折叠,阻断了雌二醇诱导的 ER $\alpha$  的 HBD 区与协同活化因子的结合,从而使雌激素依赖的 ER $\alpha$  转录活化无法进行,这是三苯氧胺产生治疗效果的机制<sup>[9]</sup>。

进一步的研究发现, Ser118 的磷酸化包括:通过 CDK7 依赖配体的方式和通过 MAPK 不依赖配体两种方式。表皮生长因子 ( EGF ) 或胰岛素样生长因子 ( IGF ) 可通过 MAPK 途径以非配体依赖的方式使 ER $\alpha$  AF-1 区的 Ser118 磷酸化。这与三苯氧胺耐药相关。Sarwar 等<sup>[10]</sup>研究发现在三苯氧胺耐药的 MCF-7 细胞株中,高表达 MAPK 者对内分泌治疗效果差。可能的影响途径是:雌激素依赖性途径为 E 与 ER 结合,促进 ER 活化与靶基因的 ERE 区结合启动 MAPK 转录;非依赖性途径为 Ras-MAPK 途径, Ras 是一种单链 GTP 结合蛋白, GF 活化的 Ras-GTP 可以募集 Raf ( 又称 MAPK kinase kinase, MAP3K ), 使其活化而催化其下游 MAPK 激酶的 ( MAPK kinase kinase, MAPKK ) 磷酸化活化,使 MAPK 磷酸化活化发挥核内信号传导作用,此乃激素治疗耐药的第一步;继而,活化的 MAPK 通过直接引起 ER、共调节蛋白或以上两者的磷酸化作用而激活 ER 通路。这种相互作用在同时高表达激酶信号和共调蛋白的细胞中可以明显提高他莫昔芬 ( TAM ) 作为激动剂的作用,导致

TAM 治疗失败<sup>[11]</sup>。

### 3.2 ER $\alpha$ 磷酸化与内分泌疗效预测

研究发现,人乳腺癌组织中 p-Ser118-ER $\alpha$ 、p-Ser167-ER $\alpha$  的蛋白表达与肿瘤组织学分级呈负相关<sup>[5,7,12]</sup>,即在低组织学分级中,p-Ser118-ER $\alpha$ 、p-Ser167-ER $\alpha$  表达增高,说明 p-Ser118-ER $\alpha$ 、p-Ser167-ER $\alpha$  的表达是具有低增殖、高分化能力表现型的一个生物标记物。低组织学分级的肿瘤被认为更可能依靠雌激素调节的 ER 信号转导途径,所以最有可能对内分泌治疗有反应。同时发现 p-Ser118-ER $\alpha$ 、p-Ser167-ER $\alpha$  的表达与 ER $\alpha$  的表达正相关<sup>[5]</sup>。2004 年 Murphy 等<sup>[7]</sup>用免疫组织化学的方法对 117 名乳腺癌组织进行检测,发现 p-Ser118-ER $\alpha$  阳性患者有比较长的无病生存期,说明 p-Ser118-ER $\alpha$  阳性患者能更多的从三苯氧胺治疗中获益;而在 PR 阳性的患者中,p-Ser118-ER $\alpha$  阳性的患者比 p-Ser118-ER $\alpha$  受体阴性的患者有比较长的无病生存期,说明 p-Ser118-ER $\alpha$  联合孕激素能更好的预测三苯氧胺的治疗。Yamashita 等<sup>[6]</sup>对 75 例乳腺癌复发患者的原发乳腺癌组织进行检测,所有患者复发后服用三苯氧胺作为一线治疗,发现 p-Ser167-ER $\alpha$  阳性的患者有比较长的无病生存期( $P = 0.03$ )。这说明对乳腺癌复发患者而言,p-Ser167-ER $\alpha$  阳性患者更易从三苯氧胺治疗中获益。这一研究同时发现 p-Ser118-ER $\alpha$  与 HER-2 的表达正相关,而 HER-2 阳性者对内分泌治疗耐药。2007 年 Jing 等<sup>[12]</sup>对 290 例 ER $\alpha$  阳性原发乳腺癌组织检测发现,p-Ser167-ER $\alpha$  与淋巴结阴性( $P = 0.034$ )、无病生存( $P = 0.006$ )、总生存( $P = 0.023$ )有关。同样,Yamashita 等<sup>[13]</sup>也发现低 p-Ser118-ER $\alpha$  表达、高 p-Ser167-ER $\alpha$  表达提高了无病生存及总生存,说明 p-Ser167-ER $\alpha$  可能预测内分泌的治疗。

研究还发现,在乳腺癌内分泌治疗过程中细胞某些位点的磷酸化水平发生变化。Sarwar 等<sup>[14]</sup>对 21 例患者的复发癌组织检测发现,与原发乳腺癌组织比较,p-Ser118-ER $\alpha$  的表达增加。也有研究发现 Ser118 磷酸化水平可以被内分泌治疗降低。例如 Zoubir 等<sup>[15]</sup>对 52 例患者的乳腺癌组织研究发现,内分泌治疗前的得分是 163,而治疗后是 80( $P = 0.000$ ,配对  $t$  检验)。而且,随着对内分泌治疗的反应不同,Ser118 磷酸化水平变化程度也不同,对内分泌越有效,Ser118 磷酸化水平降低越多。

【关键词】 乳腺肿瘤; 雌激素受体; 磷酸化

【中图法分类号】 R737.9 【文献标识码】 A

### 参考文献

- [1] 沈镇宙,邵志敏. 现代乳腺肿瘤学进展. 上海:上海科学技术文献出版社,2002:187.
- [2] Deborah D A. Estrogen receptor phosphorylation. *Steroids*, 2003, 68:1-9.
- [3] Joel P B, Traish A, Lannigan D. Estradiol-induced phosphorylation of serine 118 in the estrogen receptor is independent of p42/p44 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem*, 1998, 273:13 317-13 323.
- [4] Chen D, Washbrook E, Sarwar N, *et al*. Phosphorylation of human estrogen receptor alpha at serine 118 by two distinct signal transduction pathways revealed by phosphorylation-specific antisera. *Oncogene*, 2002,21: 4921-4931.
- [5] Murphy L C, Cherlet T, Adeyinka A, *et al*. Phosphoserine-118 estrogen receptor- $\alpha$  detection in human breast tumors *in vivo*. *Clin Cancer Res*, 2004,10:1354-1359.
- [6] Yamashita H, Nishio M, Kobayashi S, *et al*. Phosphorylation of estrogen receptor alpha serine 167 is predictive of response to endocrine therapy and increases postrelapse survival in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Research*, 2005,7: 753-764.
- [7] Murphy L C, Niu Y L, Snell L, *et al*. Phospho-serine-118 estrogen receptor-alpha expression is associated with better disease outcome in women treated with tamoxifen. *Clin Cancer Res*, 2004, 10:5902-5906.
- [8] Castano E, Chen C W, Vorojeikina D P, *et al*. The role of phosphorylation in human estrogen receptor function. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1998, 65: 101-110.
- [9] 王甜甜,马荣. 乳腺癌内分泌治疗研究现状. 中国现代普通外科进展,2004,7:260-262.
- [10] Sarwar N, Kim J S, Jiang J, *et al*. Phosphorylation of ER alpha at serine 118 in primary breast cancer and in tamoxifen-resistant tumours is indicative of a complex role for ER alpha phosphorylation in breast cancer progression. *Endocr Relat Cancer*, 2006,13:851-861.
- [11] Santen R J, Song R X, McPherson R, *et al*. The role of mitogen-activated protein (MAP) kinase in breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2002,80: 239-256.
- [12] Jiang J, Sarwar N, Peston D, *et al*. Phosphorylation of estrogen receptor-alpha at Ser167 is indicative of longer disease-free and overall survival in breast cancer patients. *Clin Cancer Res*, 2007,13: 5769-5776.
- [13] Yamashita H, Nishio M, Toyama T, *et al*. Low phosphorylation of ER serine 118 and high phosphorylation of ER $\alpha$  serine 167 improve survival in ER-positive breast cancer, *Endocr Relat Cancer*, 2008, 15: 755-763.
- [14] Sarwar N, Kim J S, Jiang J, *et al*. Phosphorylation of estrogen receptor  $\alpha$  at serine 118 in human breast tumours, ASCO Meeting Abstracts, 2005, 23: 9576.
- [15] Zoubir M, Mathieu M C, Mazouni C, *et al*. Modulation of ER phosphorylation on serine 118 by endocrine therapy: a new surrogate marker for efficacy. *Ann Oncol*, 2008,19:1402-1406.

(收稿日期:2008-08-07)

(本文编辑:周艳)

徐东宏,范忠林,耿翠芝,等. ER $\alpha$  磷酸化与乳腺癌内分泌疗效关系的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2009,3(1):77-81.