

• 专家论坛 •

乳腺癌转移机制的研究及其临床应用

邵志敏

乳腺癌远处转移是导致患者死亡的主要原因。迄今为止,我们虽然对乳腺癌的转移机制有所了解,但仍有众多问题尚未解决。研究乳腺癌转移机制这一医学难题,有助于掌握肿瘤演进过程,防治乳腺癌转移。转移相关基因和蛋白是转移发生的内在分子基础,所谓转移相关基因是一族功能上能够促进或阻断肿瘤转移潜能而不影响肿瘤细胞生长、增殖的基因。乳腺癌转移过程不仅伴随着增殖相关分子和转移相关分子之间的程序性互动,而且也受到细胞微环境、宿主因素、免疫调控等多元影响。近年来,通过应用消减杂交、差异表达以及高通量芯片筛选等技术,从不同转移潜能的乳腺肿瘤细胞系及动物细胞模型中筛选并鉴定了一些乳腺癌转移相关基因。自从 1988 年美国国家癌症研究所(NCI)分离出肿瘤转移抑制基因 nm23 以来,已发现了一定数量的乳腺癌转移相关基因,但尚缺少基因和基因、基因和蛋白、多种转移相关分子间调控网络的多元研究。

1 筛选乳腺癌转移相关基因和蛋白的策略

迄今为止,已发现的乳腺癌转移相关基因及其编码的蛋白有数十余种,如基质金属蛋白酶 9(MMP9)、c-erbB-2、血管内皮生长因子(VEGF)等,分别从细胞基质水解、侵袭、血管生成等不同角度对乳腺癌的转移产生影响。不同的癌症具有不同的转移靶器官谱,其机制目前不得而知。乳腺癌转移最常见的靶器官为肺、肝和骨。明确乳腺癌转移的不同靶器官亲嗜性所对应的转移相关基因,对研究转移本质、选择干预策略很有价值。当前,裸鼠异体移植瘤模型被认为是筛选自发性高或低转移特性的乳腺癌细胞系的重要模型,并被广泛应用。我们曾采用人乳腺癌细胞株 MDA-MB-435/231 来构建裸鼠原位移植瘤模型。将肿瘤细胞注射裸鼠乳腺后,取肺转移灶内癌细胞进行连续 6 轮筛选,建立具有自发性肺高转移特性的人乳腺癌细胞系(MDA-MB-435HM/231HM)。运用核型分析、MTT 还原测定、流式细胞仪检测技术及基因芯片等方法,比较高转移潜能细胞和亲本细胞间的差异后发现,MDA-MB-435HM 细胞较亲本细胞倍增时间缩短,

增殖速度显著加快;细胞的侵袭能力提高约 2 倍;S 期细胞所占的比例显著增高;亲本细胞 4 周肺转移率为 40%,而 435HM 细胞达到 100%。

这些细胞遗传背景相同而转移表型不同的研究模型,为解开乳腺癌转移机制之谜提供了有力工具。随着高通量分子筛选技术的发展,一次观察成千上万基因的表达差异已经不是什么难事。通过基因表达芯片和蛋白组学,我们可以成功地找到高转移潜能和原代细胞之间的基因表达谱、转录本和蛋白组之间的差异。这些差异表达往往提示行使功能的关键分子。当然,在复杂庞大的转移调控网络中,有些分子是“Driver”,即始动因素,而有些分子是“Passenger”,为启动转移进程后的推递因素、级联效应分子等。如何在纷繁芜杂的基因变量中找到“Driver”,对认识转移发生、发展的本质和找到治疗干预的靶点,具有重要意义。

2 乳腺癌靶器官亲嗜性转移的影响因素

在乳腺癌转移机制中,多种因素协同作用,互相影响。并不是哪一方的绝对主导地位导致了乳腺癌亲嗜性转移的启动和进展,而是多种效应造就了转移结局。按照目前的观点,主要有以下几个方面的因素。

2.1 转移抑制分子的失活和促转移分子的激动

乳腺癌转移抑制基因包括有 nm23、KAI1/CD82、Maspin、BRMS1 (Breast metastasis suppressor-1)、KISS-1 等,促转移基因包括核转录因子(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、RhoC (Ras homology C)、基质金属蛋白酶家族(MMPs)等,都已有了较多研究。我们曾运用已建立的乳腺癌肺转移模型,筛选乳腺癌肺转移相关基因和蛋白,并对得到的如 AF1Q、PDX6 (peroxiredoxin 6)和 Rab27 等候选肺转移相关分子进行功能学论证。我们发现,AF1Q 稳定转染的 MDA-MB-435 细胞的体外侵袭能力显著提高,裸鼠移植瘤实验提示 AF1Q 能促进原位肿瘤生长、肺转移病灶的形成。为进一步明确其作用机制,我们用功能基因芯片技术检测转染 AF1Q 前后细胞的基因表达变化,发现了 22 个基因表达有变化,后续的功能学研究证实:AF1Q 促进乳腺癌细胞生长与其上调雌激素敏感性指状蛋白(EFP)有关;AF1Q 促进侵袭转移与其上调 integrin α 3 等有关。此外,另一个转移相关基因 Rab27A 通过调节人胰岛素样生长因子-II (IGF-II)的浓度,影响 IGF-II 下游基因表达,对乳腺癌细胞增殖、细胞周期分布、凋亡和侵袭发挥作用。

当然,乳腺癌转移并非单纯几个基因起作用,在这多元网络中,还有一系列 ER 通路相关基因为乳腺癌细胞增殖保驾护航;肿瘤血管生成与新生淋巴

管调控分子为转移灶生长提供条件。转移抑制分子的失活和促转移分子的激动,是肿瘤细胞转移发生的重要基础。转移抑制分子的失活机制,往往和基因突变、杂和性丢失(LOH)等密切相关;近年来,随着表观遗传学研究的深入,发现转移抑制基因的甲基化和相关核蛋白乙酰化是乳腺癌组织中抑制转移分子失活的重要机制。反之,去甲基化、去乙酰化等变化可能导致原先沉默的促转移基因被激活。此外,泛素化异常和小分子泛素样修饰体化(small ubiquitin-like modifier, SUMO)异常,也是蛋白功能异常的潜在机制;信号通路异常也会放大或降低转移相关分子的生物学效应。

2.2 乳腺癌细胞、细胞微环境和宿主因素的联合作用

很多研究都试图从肿瘤细胞本身去解释转移的发生。事实上,恶性肿瘤的发生及演进过程与宿主存在着复杂的相互作用,既相互竞争、相互拮抗又长期共存,两者间的平衡决定了肿瘤的消长与宿主的命运。“宿主-肿瘤-肿瘤微环境”之间的关系既是乳腺癌转移研究中的一个热点,也是难点。研究涉及基质降解、血管或淋巴管形成、黏附分子的诱生、细胞骨架重构、趋化因子及其受体等等。

黏附分子 E-cadherin、MMPs、血小板源性生长因子(PDFG)等均在乳腺癌侵袭和转移中扮演了重要角色。在肿瘤微环境中,有一类分子特别引人注目,即趋化因子。乳腺癌具有向特定部位转移的特点,尤其是向骨髓、肺、局部淋巴结和肝的转移。有报道指出趋化因子 CCL3、CCL4、CCL5 等可引起人乳腺癌细胞不同的迁移反应。CXCL12 和 CXCR4 构成的生物学轴可能在包括乳腺癌在内的多种实体瘤的生长、转移中发挥重要作用。NF- κ B 可通过诱导表达 CXCR4 而促进乳腺癌细胞的侵袭和转移,用抗 CXCR4 的抗体可使人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 在小鼠的肺转移率下降 61%~82%。目前以 CXCR4 为靶点的抗体已见端倪,有望成为可与 HER-2 抗体相媲美的抗肿瘤药。趋化因子诱骗受体则是另一类值得关注的分子。一般情况下,趋化因子与趋化因子诱骗受体结合而被清除掉,结合后并不引起细胞信号转导及细胞代谢改变。Duffy 抗原趋化因子受体(DARC)在实体肿瘤中作为负性调节因子的假说在肺癌、前列腺癌中已经得到了支持。同样,在乳腺癌中,DARC 作为促血管生成性趋化因子的清除槽,可捕捉和清除成血管性趋化因子,抑制肿瘤的血管生成,从而抑制乳腺癌的生长和转移。

宿主免疫因素也对转移产生影响。很多研究证实,固有免疫和特异性免疫是机体对抗肿瘤细胞增殖和转移的重要策略,但是针对乳腺癌细胞的特异性免疫的杀伤机制缺乏报道。特定类型的乳腺癌如髓样癌,常常伴有肿瘤组织中淋巴细胞的广泛浸润,但其内在的免疫学调控机制尚未清晰。乳腺癌中

的免疫相关分子人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA), Fas/FasL, Toll 样受体等逐渐被报道, 揭示了机体免疫因素在乳腺癌转移过程中的重要作用。而针对 Survivin, ErbB-2/*neu* 等靶点的乳腺癌疫苗已经进入临床前甚至 I 期临床研究。

当前, 肿瘤干细胞理论成为肿瘤复发、转移基础研究的热点, 而乳腺癌干细胞的研究首当其冲。目前有限的资料已经显示, 乳腺癌干细胞在复发转移中具有轴心地位, 干细胞的自我增殖本质和耐药特性成为乳腺癌治疗的难关。干细胞理论将大大丰富乳腺癌的转移机制理论。

3 转移机制的临床应用

乳腺癌转移机制的研究, 旨在搞清楚乳腺肿瘤细胞生物学的本质; 而更大的目的, 则在于终极的临床应用。其应用主要有两个方向。

3.1 通过掌握关键的转移调控节点, 捕捉有效的药物作用靶点

抗肿瘤策略正从传统的非选择性单一的细胞毒性药物, 向针对内在调控机制的新型靶向药物发展。目前国内外关注的抗肿瘤作用的新靶点和相应的抗肿瘤制剂或手段有: 以细胞信号转导分子为靶点, 包括蛋白酪氨酸激酶(PTK)抑制剂、促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号转导通路抑制剂等; 以肿瘤新生血管、淋巴管为靶点, 如新生血管、淋巴管抑制剂; 针对宿主-肿瘤微环境的调节剂; 促进恶性细胞向成熟分化, 如分化诱导剂; 特异性杀伤癌细胞, 如(抗体或毒素)导向治疗, 等等。在乳腺癌领域, 针对 HER-2 的靶向治疗已经被广泛应用; 针对 HER-1/2 的药物、血管新生抑制药物等均进入了临床试验, 一小部分已经应用于转移性乳腺癌的二线、三线治疗。每年有无数针对乳腺癌转移相关信号通路的靶向化合物被筛选和开发, 但是要跨越重重的临床前检验、临床试验, 获得疗效和安全性的双重证明, 无疑需要一段漫长的时间。

3.2 寻找乳腺癌转移相关分子, 实现对区域和远处转移的预测

在当前的临床病理预后体系的基础上, 寻找客观有价值的分子预后新指标, 系统地评价患者预后, 从而有针对性地指导术后的辅助治疗, 提高生存率, 是乳腺癌分子研究的重点。20 世纪 80 年代主要开展临床指标和预后的关系, 如淋巴结癌细胞浸润状态、肿瘤大小、年龄、癌细胞淋巴管浸润等。20 世纪 90 年代以来, 学者们对肿瘤细胞的生物学特性越来越重视。随着基因芯片技术的发展, 肿瘤生物学特性的研究和预后因子的界定, 不再拘泥于几个简单的临床病理指标, 数以万计的分子指标被挖掘出来, 并被证明在一定程度上与乳

腺癌转移相关。2000 年以后,一系列的基因表达谱产品得以开发运用。目前,70-基因表达谱(MammaPrint)、76-基因表达谱以及美国的 OncotypeDX 等,主要针对淋巴结阴性、激素受体阳性、未接受辅助化疗的早期乳腺患者。通过基因表达谱预测,能精确地判断哪些患者适合化疗,而哪些患者不能从化疗中受益,具有比常规病理指标更好的预后价值。Mammaprint 和 OncotypeDX 已经获得了较为广泛的应用,针对这两个产品的临床试验也正在进行中。其他更多的芯片工具,如干细胞表达谱芯片、Wound Response 差异表达谱、乳腺癌核分级基因芯片等都有所报道,成为未来个体化预后和治疗的参考方向。

【关键词】 乳腺肿瘤;转移机制

【中图法分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

(收稿日期:2009-08-14)

(本文编辑:范林军)

邵志敏. 乳腺癌转移机制的研究及其临床应用[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版,2009,3(5):475-479.