

• 综述 •

细胞外基质蛋白 1 与乳腺癌的研究进展

吴秋婉 张志明

乳腺癌是威胁女性健康的恶性肿瘤之一。随着治疗方法的改进,乳腺癌患者的预后已得到明显改善;但其浸润转移的机制未明,患者治疗后的复发和转移难题仍无法攻克。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是肿瘤细胞与周围微环境相互作用的分子基础,与多种恶性肿瘤的侵袭和转移相关。细胞外基质蛋白 1(extracellular matrix protein 1, ECM1)是位于 ECM 中的一种糖蛋白,一直以来,被认为与皮肤黏膜疾病关系密切,而与肿瘤的研究稍显滞后。随着近年来研究的深入,ECM1 在肿瘤浸润转移中的作用逐渐受到重视。本文主要综述 ECM1 的生物学功能、相互作用分子及其在乳腺癌中的研究进展。

1 ECM1 概述

ECM1 是 Mathieu 等^[1]从小鼠成骨基质细胞系 MN7 中分离得到的一种相对分子质量为 85 000 的分泌型糖蛋白,其氨基末端是由 19 个氨基酸残基组成的信号肽,包含 4 个功能区:无半胱氨酸的 N 端、2 个串联重复序列及 C 末端。ECM1 蛋白具有 3 个 N-糖基化位点和 9 个磷酸化位点,其中 4 个为蛋白激酶 C 的磷酸化位点,5 个为酪蛋白激酶 II 的磷酸化位点,但没有氨基葡聚糖结合位点。

ECM1 基因位于人染色体 1q21 邻近的表皮分化复合体(epidermal differentiation complex, EDC)区,包含 10 个外显子,在 1 号染色体长臂上横跨约 5 kb^[2]。编码 4 种不同的剪接体^[3]:ECM1a 代表完整全长的 mRNA 转录体,编码含有 540 个氨基酸的多肽序列,表达于基底层角化细胞、真皮层的血管及其附属器的上皮细胞;ECM1b 缺乏外显子 7,表达产物位于表皮的棘层和颗粒层,翻译包含 415 个氨基酸的蛋白质^[4];ECM1c 是人类 ECM1 第 5 个内含子区额外加入一个外显子 5a(该外显子与鼠基因上的第 6 个外显子

基金项目:厦门市卫生局科研基金(WSK0505)

作者单位:361003 福建 厦门,福建医科大学教学医院厦门市第一医院乳腺外科

通信作者:张志明, Email: zhangzhiming164@yahoo. cn

同源),限制性表达于人类皮肤的基底层^[5],合成一段含有 559 个氨基酸的多肽序列;而 ECM1d 是包含 57 个氨基酸的短肽片段^[6],其功能目前仍不清楚。

2 ECM1 的生物学功能

ECM1 是一种分泌型蛋白,参与多种生物学过程,包括细胞增殖、血管生成、胚胎的软骨形成、皮肤分化和肿瘤的形成等。ECM1 基因临近人染色体 1q21 的 EDC,可能在角化细胞分化过程起作用^[2]。ECM1 是硬化性苔癣患者体液免疫的一个关键因素,患者血清中存在高滴度的 ECM1 自身抗体^[7]。

类脂蛋白沉积症(lipoid proteinosis, LiP)是一种罕见的常染色体隐性遗传病,基因突变位于染色体 1q21,以皮肤黏膜角化过度、真皮基底膜增厚为特征。研究发现,患者 ECM1 基因的第 6 位或第 7 位外显子部分缺失引起病变皮肤黏膜间淋巴管生成障碍,脂类和蛋白质局部沉积^[8],表明 ECM1 基因与淋巴管生成关系密切。

Han 等^[9]将重组的人 ECM1 蛋白加入内皮细胞培养液中,发现内皮细胞增殖明显加快,但肿瘤细胞(如 MDA-435、MDA-468、TSU 和 NIH-3T3)增殖无明显影响;另外将此蛋白加入鸡胚的尿囊绒毛膜上,经培养后发现膜上出现了新生血管。以上结果表明 ECM1 有促进内皮细胞增殖及血管形成的作用。Albig 等^[10]亦证实了此结论。

3 ECM1 的相互作用因子

基底膜蛋白聚糖(串珠素, perlecan)、腓骨蛋白-1C/D(fibulin-1C/D)、腓骨蛋白-3(fibulin-3)、层粘连蛋白 332(laminin 332)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)均属 ECM 成分,可与 ECM1 蛋白的不同位点结合,参与多种生理和病理过程。

3.1 Perlecan

Perlecan 是基底膜的硫酸乙酰肝素蛋白多糖,在血管生成过程中可见其表达,与血管生成相关^[11],并且在软骨形成、骨骼发育、血管生成及抗血管活性方面具有重要作用。Perlecan V 区,即 endorepellin,被认为是一种血管生成抑制剂。Endorepellin 与 ECM1 的相互作用可能对骨形成及血管生成起调节作用^[12],影响肿瘤的生长和转移。

3.2 Fibulin-1 C/D

Fibulins 是一个细胞外糖蛋白家族,通过结合不同的细胞外蛋白、受体和

生长因子而影响细胞的增殖、迁移和分化,参与胚胎发生、骨骼发育、软骨形成、肿瘤和创伤修复等多种生物学过程^[13]。Fibulin-1 基因(FBLN1),是该蛋白家族的原型,位于染色体 22q13.2~13.3,有 4 种剪接体:A、B、C 和 D。研究发现,fibulin-1A 和 B 只在人类胎盘素中少量表达,而 fibulin-1C 和 D 在多数组织和细胞系中呈一定程度表达^[14]。高浓度的 fibulin-1D,可选择性延缓纤维肉瘤细胞恶化,降低其侵袭性。fibulin-1C 及 fibulin-1D 的羧基端可与 ECM1 结合,但其结合后是否降低肿瘤细胞的恶性转化及侵袭转移,目前并未明确。

3.3 Fibulin-3

体内外实验均证实,fibulin-3 可与 ECM1a 特异结合,并作为血管生成抑制剂,抑制内皮细胞生长,削弱肿瘤的生长及肿瘤微环境的形成^[15]。二者的微弱结合,可释放无活性的 MMP-9 前体,从而抑制内皮细胞的血管内皮生长因子信号。

3.4 Laminin 332

Laminin 332 是一种异源三聚体($\alpha 3\beta 3\gamma 2$)糖蛋白,是上皮细胞基底膜的成分之一,广泛表达于皮肤及其他上皮细胞^[15]。与 ECM1a 结合后,其与 IV 型胶原的结合作用增强。

3.5 基质金属蛋白酶 9(MMP-9)

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一类依赖锌离子的基质分解酶类^[16],可降解 ECM 的大多数骨架成分。MMP-9 是降解基底膜(basilar membrane, BM)和 ECM 的蛋白水解酶,属 IV 型胶原酶,以无活性的酶原形式分泌,在切除 N-端的一段序列暴露出锌离子活性中心后被激活,进而发挥功能。MMP-9 通过降解 BM 和 ECM,促进肿瘤新生血管形成从而增强肿瘤细胞的侵袭和转移能力^[17]。ECM1 在体外可抑制 MMP-9 的酶解活性^[18]。故在 ECM1 基因突变的 LiP 患者皮肤中 MMP-9 活性增强,IV 型胶原反应性增生,透明物质沉积,引起皮肤黏膜过度角化、真皮基底膜增厚等特征性病变。

4 ECM1 与乳腺癌的研究

ECM1(主要为 ECM1a 亚型)在乳腺癌组织及恶性程度高的乳腺癌细胞高表达,并与乳腺癌淋巴结转移相关。ECM1 在乳腺癌组织中的表达明显高于正常组织,转移性乳腺癌组织的表达高于非转移性乳腺癌;恶性程度低的乳

腺癌细胞株 MCF-7、Sk-Br-3 不表达 ECM1,而恶性程度较高的 MDA-435 细胞株高表达^[19]。Han 等^[9]发现,ECM1 表达于两种恶性程度较高的乳腺癌细胞系 MDA-435 和 LCC15 的基质,而恶性程度相对较低的乳腺癌细胞系 MCF-7 和 Sk-Br-3 等基质则不表达,提示 ECM1 的表达与乳腺癌的恶性程度、浸润转移相关。在原发性乳腺癌组织、继发性乳腺癌的转移淋巴结和骨髓的病理标本中均检测到 ECM1 蛋白表达,但正常乳腺导管上皮细胞、成纤维细胞、白细胞及其他基质细胞几乎没有阳性染色。因此,ECM1 可能由肿瘤细胞产生,具有促进肿瘤细胞浸润和转移的作用。

过表达的人乳腺上皮细胞 activator protein-2(AP-2,主要为 AP-2 α 或 AP-2 γ)转录因子可诱导 ECM1 基因表达^[20]。而 AP-2 转录因子家族被认为是乳腺一些相关基因如人表皮生长因子-2 和雌激素受体的调控因素。AP-2 可能通过诱导 ECM1 基因表达的机制调节乳腺上皮细胞的激素反应性。ECM1 基因表达还受 Wnt/ β 连环蛋白信号转导通路的影响^[21]。此通路异常与包括乳腺癌在内的多种肿瘤的发生、发展关系密切^[22]。

Lal 等^[23]对 134 例浸润性乳腺癌患者进行 3 年随访发现:约 50%的患者癌组织表达 ECM1;ECM1 的表达呈现出对患者特异疾病生存率的预测作用(随访 10 年和 15 年的风险比分别为 4.16 和 11.6)。在众多的 ECM 中,ECM1 可作为乳腺癌一项重要的预后因子^[24]。

体外实验表明,ECM1 在人乳腺癌转移能力模型中过表达^[25]。虽无法肯定 ECM1 在乳腺癌浸润转移机制中的确切作用,但 ECM1 可促进内皮细胞增殖,在转移性乳腺癌中高表达,恶性程度低的乳腺癌中低表达,正常组织中低表达或不表达,因此可推测 ECM1 经血管和(或)淋巴管通路促进乳腺癌的浸润和转移。

5 结语

ECM1 在多种恶性上皮肿瘤组织中高表达,包括浸润性乳腺导管癌、食管鳞状细胞癌、胃和结直肠癌,并与肿瘤的恶性程度及淋巴结转移相关^[26]。ECM1 可促进内皮细胞增殖和血管形成,并与皮肤黏膜间淋巴管生成关系密切。ECM1 可否通过促进淋巴管生成,参与乳腺癌的淋巴浸润和转移还有待深入研究。研究 ECM1 在乳腺癌发生、发展中的分子生物学作用,或联合其他的肿瘤转移标志分子,将有助于进一步探讨乳腺癌的浸润转移机制^[27]。ECM1 在正常乳腺组织和乳腺良性病变组织无表达或低表达,在恶性乳腺癌

细胞系及转移性乳腺癌高表达,与乳腺癌的恶性程度、浸润转移、预后相关,表明 ECM1 可作为一种新型的肿瘤标记物^[28],协助预测和诊断术前活检的乳腺癌标本有无淋巴结转移,以评估乳腺癌的恶性程度及转移潜能;也可在术后针对 ECM1 基因及其作用因子进行生物靶向治疗,防止术后复发和转移,为乳腺癌的治疗开辟一条新途径。

【关键词】 细胞外基质蛋白 1;乳腺肿瘤;转移

【中图分类号】 R737.9 【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Mathieu E, Meheus L, Raymackers J, et al. Characterization of the osteogenic stromal cell line MN7; identification of secreted MN7 proteins using two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis, Western blotting and microsequencing. *Bone Miner Res*, 1994, 9: 903-913.
- [2] Smits P, Ni J, Feng P, et al. The human extracellular matrix gene 1 (ECM1): genomic structure, cDNA cloning, expression pattern and chromosomal localization. *Genomics*, 1997, 45: 487-495.
- [3] Sercu S, Zhang M, Oyama N, et al. Interaction of extracellular matrix protein 1 with extracellular matrix components; ECM1 is a basement membrane protein of the skin. *J Invest Dermatol*, 2008, 128: 1397-1408.
- [4] Sander CS, Sercu S, Ziemer M, et al. Expression of extracellular matrix protein 1 (ECM1) in human skin is decreased by age and increased upon ultraviolet exposure. *Br J Dermatol*, 2006, 2: 218-224.
- [5] Smits P, Bhalerao J, Merregaert J. Molecular cloning and characterization of the mouse *Ecml* gene and its 5' regulatory sequences. *Gene*, 1999, 226: 253-261.
- [6] Horev L, Potikha T, Ayalon S, et al. A novel splice site mutation in ECM-1 gene in a consanguineous family with lipid proteinosis. *Exp Dermatol*, 2005, 14: 891-897.
- [7] Kawakami Y, Oyama N, Hanami Y, et al. A case of lichen sclerosus of the scalp associated with autoantibodies to extracellular matrix protein 1. *Arch Dermatol*, 2009, 145: 1458-1460.
- [8] Uchida T, Hayashi H, Inaoki M, et al. A failure of mucocutaneous lymphangiogenesis may underlie the clinical features of lipid proteinosis. *Br J Dermatol*, 2007, 156: 152-157.
- [9] Han Z, Ni J, Smiths P, et al. Extracellular matrix protein 1 (ECM1) has angiogenic properties and is expressed by breast tumor cells. *FASEB J*, 2001, 15: 988-994.
- [10] Albig AR, Roy TG, Becenti DJ, et al. Transcriptome analysis of endothelial cell gene expression induced by growth on matrigel matrices: identification and characterization of MAGP-2 and lumican as novel regulators of angiogenesis. *Angiogenesis*, 2007, 10: 197-216.
- [11] Sher I, Zisman Rozen S, Eliahu L, et al. Targeting perlecan in human keratinocytes reveals novel roles for perlecan in epidermal formation. *J Biol Chem*, 2006, 281: 5178-5187.
- [12] Mongiat M, Fu J, Oldershaw R, et al. Perlecan protein core interacts with extracellular matrix protein 1 (ECM1), a glycoprotein involved in bone formation and angiogenesis. *J Biol Chem*, 2003, 278: 17 491-17 499.
- [13] Segade F. Molecular evolution of the fibulins; implications on the functionality of the elastic fibulins. *Gene*, 2010, 464: 17-31.
- [14] Fujimoto N, Terlizzi J, Brittingham R, et al. Extracellular matrix protein 1 interacts with the domain III of fibulin-1C and 1D variants through its central tandem repeat 2. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 333: 1327-1333.

- [15] Sercu S, Lambear AM, Steenackers E, et al. ECM1 interacts with fibulin-3 and the beta 3 chain of laminin 332 through its serum albumin subdomain-like 2 domain. *Matrix Biol*, 2009, 28:160-169.
- [16] Fingleton B. Matrix metalloproteinases; roles in cancer and metastasis. *Front Biosci*, 2006, 11:479-491.
- [17] Littlepage LE, Sternlicht MD, Rougier N, et al. Matrix metalloproteinases contribute distinct roles in neuroendocrine prostate carcinogenesis, metastasis, and angiogenesis progression. *Cancer Res*, 2010, 70: 2224-2234.
- [18] Fujimoto N, Terlizzi J, Aho S, et al. Extracellular matrix protein 1 inhibits the activity of matrix metalloproteinase 9 through high-affinity protein/protein interactions. *Exp Dermatol*, 2006, 15:300-307.
- [19] 侯彦强, 仲人前, 耿红莲, 等. 细胞外基质蛋白 1 在乳腺癌组织和细胞株中的表达及其意义. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2008, 15:384-387.
- [20] McPherson LA, Woodfield GW, Weigel RJ. AP2 transcription factors regulate expression of CRABP II in hormone responsive breast carcinoma. *J Surg Res*, 2007, 138:71-78.
- [21] Kenny PA, Enver T, Ashworth A. Receptor and secreted targets of Wnt-1/ β -catenin signalling in mouse mammary epithelial cells. *BMC Cancer*, 2005, 5:3.
- [22] Du Q, Zhang X, Cardinal J, et al. Wnt/beta-catenin signaling regulates cytokine-induced human inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting nuclear factor-kappaB activation in cancer cells. *Cancer Res*, 2009, 69:3764-4771.
- [23] Lal G, Hashimi S, Smith BJ, et al. Extracellular Matrix 1 (ECM1) expression is a novel prognostic marker for poor long-term survival in breast cancer; a hospital-based cohort study in Iowa. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16: 2280-2287.
- [24] Bergamaschi A, Tagliabue E, Srile T, et al. Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome. *J Pathol*, 2008, 214:357-367.
- [25] Kreunin P, Urquidi V, Lubman DM, et al. Identification of metastasis-associated proteins in a human tumor metastasis model using the mass-mapping technique. *Proteomics*, 2004, 4:2754-2765.
- [26] Wang L, Yu J, Ni J, et al. Extracellular matrix protein 1 (ECM1) is overexpressed in malignant epithelial tumors. *Cancer Lett*, 2003, 200:57-67.
- [27] 邵志敏. 乳腺癌转移机制的研究及其临床应用. *中华乳腺病杂志:电子版*, 2009, 3:475-479.
- [28] 耿翠芝. 与乳腺癌相关的肿瘤标志物研究现状及评价. *中华乳腺病杂志:电子版*, 2009, 3:9-15.

(收稿日期:2010-04-20)

(本文编辑:罗承丽)

吴秋婉, 张志明. 细胞外基质蛋白 1 与乳腺癌的研究进展[J/CD]. *中华乳腺病杂志:电子版*, 2010, 4(5):588-593.