

## • 综述 •

# Tau 与乳腺癌紫杉醇化疗敏感性关系的研究进展

邓权通 综述 王坤 郑登云 审校

紫杉醇已广泛应用于多种实体肿瘤的治疗,其在乳腺癌的化疗中也具有良好的临床效果<sup>[1]</sup>。体外药敏试验显示紫杉醇及含此药物的联合化疗方案对乳腺癌的敏感性较高<sup>[2]</sup>。但也有研究显示,多柔比星、环磷酰胺序贯紫杉醇方案与多柔比星、环磷酰胺方案相比,复发率只降低了 17%,5 年中位无瘤生存期的改善也只增加了约 15%,这提示只有少数患者能从增加紫杉醇的化疗中获益,部分患者可能存在耐药现象<sup>[3]</sup>。由于增加紫杉醇化疗会增加患者化疗周期及毒性反应,通过分子标志物去选择能从紫杉醇治疗中获益的合适患者显得尤其重要。目前认为,紫杉醇的耐药机制主要与  $\beta$  微管蛋白、P-糖蛋白、bcl-2 等高表达相关,因此,这些有可能成为预测紫杉醇疗效的标志物。近年的研究还表明,Tau 蛋白的表达与乳腺癌<sup>[4]</sup>、胃癌<sup>[5]</sup>、胰腺癌<sup>[6]</sup>紫杉醇化疗的敏感性相关。本文就 Tau 与乳腺癌紫杉醇化疗敏感性的关系作一综述。

## 1 Tau 的结构和功能

Tau 是一种微管相关蛋白,主要在神经细胞中表达,也在正常乳腺上皮细胞和乳腺癌中表达。Tau 基因定位于 17 号染色体长臂上,长度超过 100 kb,含 16 个外显子<sup>[7]</sup>。Tau 蛋白在胎儿脑中只有一种 3R 异构体,在成熟人脑中至少有 6 种异构体:4R2N、3R2N、4R1N、3R1N、4R0N、3R0N,分别由 352~441 个氨基酸残基组成,相对分子质量( $M_r$ )在 48 000~67 000 之间,它们是来源于同一单基因的不同 mRNA 剪切产物,是对 Tau 基因外显子 2、3、10 选择性剪接、翻译后所形成。Goode 等<sup>[8]</sup>认为这些异构体结构上的区别在于羧基端具有三、四个由 31~32 个氨基酸组成重复系列(R)和氨基端具有 0~2 个由 29 个氨基酸插入系列(N)。近年的研究表明,Tau 蛋白是一种有极性和带电荷的高可溶蛋白。Tau 蛋白从羧基端至氨基端可分成 4 个区域:通过调节磷酸化水平间接控制 Tau 蛋白与微管结合的 C-端区域;有三、四个缺陷重复系列的微管结合区域;间接调节 Tau 蛋白与微管联系的带正电荷的富含脯氨酸区域;含有 0、1 或 2 个插入系列的 N-端区域<sup>[9]</sup>。富含脯氨酸区和 N-端区结合组成突出区域,从微管表面向外延伸<sup>[10]</sup>。

基金项目:广东省科技计划项目(2008B030301356);广东省科技计划项目(2005B30301009)

作者单位:510080 广州,广东省人民医院肿瘤中心内一科 汕头大学医学院 08 级硕士研究生(邓权通)

Tau 蛋白的主要功能是促进微管的形成并保持微管的稳定性。Tau 蛋白结合的微管蛋白可作为微管组装早期的核心,进而促进其他微管蛋白在此核心上延伸聚集形成微管,它可以在微管间形成横桥,可维持并加强微管的动力学稳定性,降低微管蛋白的解离,并诱导微管成束,参与神经元的生长发育维持轴突的形态,有利于微管的稳定。

Tau 蛋白磷酸化是调节 Tau 蛋白与微管相互作用的重要因素,其磷酸化水平依赖多种蛋白激酶与磷酸化酶作用的平衡来调节。Tau 蛋白含有 >80 个苏氨酸和丝氨酸残基,这些都是磷酸化的潜在位点,磷酸化水平影响 Tau 蛋白与微管的亲和力<sup>[11]</sup>。脯氨酸富含区的位点磷酸化后,Tau 蛋白促进微管核苷酸从头合成的能力降低<sup>[12]</sup>。最近研究发现,Tau 蛋白其他的修饰包括糖基化、泛素化、硝化,蛋白酶解<sup>[13-14]</sup>等也会对 Tau 蛋白与微管异常聚集和解离平衡有直接调节作用。Tau 基因的突变也能影响 Tau 蛋白与微管的结合力<sup>[15]</sup>。

## 2 Tau 与雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人表皮生长因子受体(HER-2)的关系

Tau 基因是 ER 诱导基因,Tau 编码基因的启动子上游含有缺陷的 ER 基因反应元件<sup>[16]</sup>。经过 17- $\beta$ -雌二醇或他莫昔芬的刺激,Tau 蛋白表达增加;通过下调 ER 的表达或者氟维司群的作用,Tau 蛋白表达下降<sup>[17]</sup>。Andre 等<sup>[16]</sup>在分别有 286 例和 133 例的两个不同亚组中观察了 Tau 基因表达水平与 ER 表达水平的相关性。两组数据均表明,ER 阴性肿瘤中 Tau 基因表达水平比 ER 阳性肿瘤低。随后只对 ER 阳性肿瘤中 Tau 基因表达的分析表明,ER 阳性肿瘤中 Tau 基因阳性表达呈非正态分布,只有少数 ER 阳性患者的 Tau 基因表达处于非常高的水平。结果还显示:在 ER 阳性的乳腺癌患者中,Tau 基因的高表达对内分泌治疗更加敏感;在接受 5 年他莫昔芬治疗的患者中,Tau 基因低表达患者具有较高的复发率<sup>[16]</sup>。而另一项研究也表明,在 ER 阴性肿瘤中,Tau 基因呈一致性低表达,而在 ER 阳性肿瘤中,观察到 Tau 基因的表达变化较大<sup>[18]</sup>。Pentheroudakis 等<sup>[19]</sup>的研究结果也显示,Tau 基因表达水平与 ER、PR 表达水平强相关,并且 Tau 基因阴性表达的肿瘤具有较高的组织学分级( $P < 0.01$ )。Tanaka 等<sup>[20]</sup>也观察到转移性乳腺癌中 Tau 蛋白高表达与 ER 高表达相关。Pusztai 等<sup>[21]</sup>用免疫组织化学方法检测 1942 例 Tau 蛋白的表达,再次验证了 ER 阳性肿瘤更容易出现 Tau 蛋白阳性结果,阳性表达率为 57%,而 ER 阴性的肿瘤仅有 15%表达阳性( $P < 0.01$ )。这些研究均表明 ER 阳性的肿瘤更容易出现 Tau 阳性表达,Tau 表达与 ER 表达呈正相关,但在 ER 阳性肿瘤中,Tau 的表达变化较大。

Andre 等<sup>[18]</sup>为观察 HER-2 基因表达与拓扑异构酶 II  $\alpha$  (topoisomerase II  $\alpha$ , TOP2A)、Tau 基因表达是否相关,检测了 132 例患者的 HER-2、TOP2A、Tau 基因的表达水平。结果显示,与 HER-2 正常表达肿瘤相比,HER-2 过表达的肿瘤中 Tau 基因的中位表达明显降低( $P=0.01$ )。对 50 例 ER 阴性病例进行分层分析发现,HER-2 过表达不再与 Tau 基因低表达相关。而对 82 例 ER 阳性肿瘤进行分析显示,HER-2 过表达与 Tau 基因低表达强相关。此研究者又分析了一项大型临床试验中肿瘤 HER-2、TOP2A 和 Tau 的基因表达情况,结果也表明在 ER 阳性肿瘤中,HER-2 过表达与 Tau 基因低表达相关( $P<0.01$ )<sup>[18]</sup>。Pusztai 等<sup>[21]</sup>用免疫组织化学方法检测 1942 例 Tau 蛋白的表达,结果显示 HER-2 过表达的肿瘤中只有 20% Tau 蛋白阳性表达( $P<0.01$ )。该研究还观察到 Tau 蛋白阳性表达与低组织学分级相关,而与肿瘤大小、淋巴结状态和年龄无相关性。从上述研究结果可初步判断 HER-2 过表达与 Tau 低表达呈正相关,但 Andre 等的研究结果只在 ER 阳性的肿瘤中才存在此种相关。是所有乳腺癌都存在 HER-2 过表达与 Tau 低表达相关,还是只有 ER 阳性肿瘤才存在此种相关,还需进一步研究来确定。

### 3 Tau 与紫杉醇的关系

Tau 蛋白的正常功能是促进微管蛋白组成微管,并维持微管的稳定性,而紫杉醇是以微管为作用靶点的肿瘤化疗药物,能促使微管的装配和阻止微管的解聚,两者作用很相似。Tau 可与微管外表面和内表面相结合,在微管内表面 Tau 与紫杉醇结合相同的结构域<sup>[22]</sup>。把 Tau 加入含紫杉醇的微管中,Tau 能结合微管外表面并加强紫杉醇介导的磷酸化<sup>[23]</sup>。有研究表明,Tau 结合微管的差异与紫杉醇的存在或缺失相关<sup>[24]</sup>。微管集聚在含有紫杉醇的环境中,Tau 与微管的亲和力减弱并且快速解离;相反,当微管集聚在无紫杉醇的环境中,Tau 表现出很强的结合力并且解离速度减慢<sup>[24]</sup>。

为观察 Tau 是否干扰到紫杉醇跟微管的结合能力,Rouzie 等<sup>[4]</sup>检测到荧光紫杉醇在 Tau 蛋白低表达的细胞中与微管的结合力更强,也检测到放射标记<sup>3</sup>H 的紫杉醇在经过 Tau 预处理后与微管的结合力减弱。经过 Tau 处理的微管提前聚集,与<sup>3</sup>H 紫杉醇的结合减少,并且在微管聚集期间,Tau 能局部保护已和紫杉醇结合的微管,Tau 的缺失可能使紫杉醇更容易破坏微管。有研究者检测了紫杉醇对 23 种不同细胞系的半抑制率( $IC_{50}$ ),根据它们的  $IC_{50}$  值将细胞系分为敏感组和耐药组,并在这些细胞系中各自建立基因表达谱,以便鉴别敏感组( $n=15$ )与耐药组( $n=8$ )之间基因的不同表达,结果表明 Tau 基因低表达与紫杉醇的敏感性相关<sup>[25]</sup>。Ikeda 等<sup>[17]</sup>的研究结果显示,Tau mRNA 的表达情况与紫杉醇化疗敏感性不相关,但  $M_r<70\ 000$  的亚型表达



与紫杉醇低敏感性相关。

为观察 Tau 是否在紫杉醇治疗的耐药性中起着重要作用, Rouzier 等<sup>[4]</sup>转染 siRNA 使乳腺癌细胞(ZR75.1 和 MCF7) Tau 基因的表达下调, 转染后加入不同浓度的紫杉醇、多西紫杉醇、长春瑞滨和多柔比星处理细胞, 最后通过免疫印迹证实 Tau 蛋白表达下调。结果显示, 下调 Tau 蛋白表达增加了紫杉醇和多西紫杉醇的敏感性, 而对长春瑞滨影响极小, 对多柔比星没有影响。因此, 该研究者认为 Tau 蛋白对紫杉醇类药物的敏感性起着主要作用<sup>[4]</sup>。虽然一些研究显示 Tau 蛋白低表达的一些细胞系对紫杉醇更加敏感, 但在人体中是否存在这种关系还有待进一步深入研究。

#### 4 Tau 与乳腺癌紫杉醇化疗敏感性的关系

对人类乳腺癌组织基因表达的分析显示, Tau 基因低表达增加了紫杉醇化疗的敏感性, Tau 基因是预测紫杉醇类药物化疗反应的一个新的标记物。有研究显示, 在接受氟尿嘧啶、环磷酰胺、多柔比星序贯紫杉醇的新辅助化疗乳腺癌患者中, 基因表达谱显示 Tau mRNA 低表达者具有更高的 pCR<sup>[26-27]</sup>。Rouzier 等<sup>[4]</sup>为分析乳腺癌患者基因表达与 pCR 的关系, 用 Affymetrix U133A 基因芯片检测了 82 例接受紫杉醇治疗的 I~III 期乳腺癌患者的 mRNA 表达, 发现 pCR 患者 Tau mRNA 水平比残留癌患者的 Tau mRNA 水平更低( $P < 0.01$ ), 并观察到所有 pCR 患者的 Tau mRNA 均低表达。随后对接受紫杉醇治疗的另外 122 例乳腺癌患者的标本进行免疫组织化学分析, 发现 Tau 蛋白低表达的 64 例患者中有 44% 的达到 pCR, 而高表达的 58 例患者中仅有 17% 获得 pCR ( $P = 0.04$ ), 多因素分析也表明 Tau 蛋白阴性表达是 pCR 的独立预测因子。Andre 等<sup>[16]</sup>的研究也表明 Tau 基因的低表达是 pCR 的独立预测因子。有研究用免疫组织化学方法检测了 35 例转移性乳腺癌组织的 Tau 蛋白表达情况, 经过含紫杉醇方案治疗后, Tau 蛋白表达阴性的患者更容易获得部分缓解(partial response, PR)或者完全缓解(complete response, CR), 并具有更长的有效化疗时间和疾病进展时间<sup>[20]</sup>。在接受含紫杉醇方案化疗的进展期乳腺癌患者中, Tau 蛋白阳性表达者疗效较低<sup>[28]</sup>。这些研究结果表明, Tau 低表达的乳腺癌对紫杉醇化疗更加敏感。

然而, 有些研究结果却表明 Tau 的表达情况不能预测紫杉醇化疗的敏感性。有研究者检测了应用蒽环类联合紫杉醇类进行新辅助化疗的 50 例乳腺癌患者 TOP2A、Tau、HER-2 的基因表达, 结果表明, HER-2 基因过表达可以预测 pCR ( $P = 0.02$ ), 而 TOP2A 和 Tau 的基因表达与 pCR 无相关<sup>[29]</sup>。还有研究者应用 kRT-PCR 检测 274 例可评估病例的 ER、PR、Tau 基因的表达。中位随访 8 年的结果表明, Tau mRNA 阳性表达能降低复发风险和死亡风险, 但其表达水

平不能预测到紫杉醇化疗可以提高无瘤生存期( $P=0.65$ )和总生存期( $P=0.73$ )。分层分析 ER 阳性患者, Tau 基因的表达水平也不能预测紫杉醇化疗可以提高无瘤生存期( $P=0.50$ )和总生存期( $P=0.88$ )<sup>[19]</sup>。Pusztai 等<sup>[21]</sup>检测了 1942 原发性乳腺癌患者的 Tau 蛋白表达, 单因素和多因素分析均表明, Tau 蛋白的阳性表达与较长的无瘤生存期和总生存期相关( $P<0.01$ )。但 Tau 蛋白表达与紫杉醇化疗效果无相关性( $P=0.92$ ), 不论是 Tau 蛋白阴性表达还是阳性表达者, 分别经多柔比星、环磷酰胺序贯紫杉醇方案或多柔比星、环磷酰胺方案化疗后, 两组的无瘤生存期和总生存期的差异均无统计学意义。此研究者认为之前报道的 Tau 低表达提高了紫杉醇化疗敏感性是因为 Tau 低表达的分子表型与 ER 阴性、高组织学分级、HER-2 过表达分子表型相关。Dumontet 等<sup>[30]</sup>的研究也得到相似的结果。这些研究显示 Tau 的表达情况不能预测紫杉醇化疗的敏感性, 与 Rouzier 等的研究结果不一致。其原因可能是检测方法、检测试剂、评判标准的差异, 也可能是 Tau 的低表达与化疗比较敏感的分子表型相关, 从而干扰了对 Tau 与紫杉醇化疗敏感性关系的评价。

## 5 结语

目前, 对紫杉醇耐药机制还处于探索阶段, 对于 Tau 与紫杉醇化疗敏感性的关系也尚未完全确定。虽然文献报道 Tau 的低表达能增加乳腺癌紫杉醇化疗的敏感性, 但 Tau 的低表达与 ER 阴性、PR 阴性、HER-2 阳性表型相关, 而这些表型本身就对紫杉醇化疗相对敏感, 究竟是 Tau 低表达增加了紫杉醇化疗的敏感性, 还是由于其伴随的分子表型增加了化疗的敏感性, 尚需更多的研究证据来确定。即使在 Tau 低表达的乳腺癌中, 经过紫杉醇化疗后还有很多肿瘤未达到 pCR, 提示可能还有其他的耐药机制存在。这类肿瘤是否更容易存在  $\beta$  微管蛋白、P-糖蛋白、bcl-2 等高表达的可能性, 也需进一步更深入地研究确定。随着药物基因组学和药物遗传学研究的逐步深入, 以及检测技术和检测结果评价的标准化, Tau 在紫杉醇化疗敏感性中生物学作用的确定, 将为临床治疗提供有力的证据, 提高肿瘤化疗的有效性。

【关键词】 乳腺肿瘤; 微管相关蛋白质类; 紫杉醇; 抗药性

【中图分类号】 R737.9      【文献标识码】 A

## 参考文献

- [1] Bria E, Nistico C, Cuppone F, et al. Benefit of taxanes as adjuvant chemotherapy, for early breast cancer: pooled analysis of 15 500 patients[J]. Cancer, 2006, 106(11):2337-2344.
- [2] 姚清深, 秦军, 陈春媚, 等. 乳腺癌的 TECIA 法药敏试验及其临床应用价值[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2009, 3(3):288-293.
- [3] Mamounas EP, Bryant J, Lembersky BC, et al. Paclitaxel after doxorubicin plus cyclophosphamide as adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: Results from NSABP-B 28[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(16):3686-3696.

- [4] Rouzier R, Rajan R, Wagner P, et al. Microtubule-associated protein Tau: a marker of paclitaxel sensitivity in breast cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(23):8315-8320.
- [5] Mimori K, Sadanaga N, Yoshikawa Y, et al. Reduced Tau expression in gastric cancer can identify candidates for successful Paclitaxel treatment[J]. *Br J Cancer*, 2006, 94(12):1894-1897.
- [6] Jimeno A, Hallur G, Chan A, et al. Development of two novel benzoylphenylurea sulfur analogues and evidence that the microtubule-associated protein Tau is predictive of their activity in pancreatic cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(5):1509-1516.
- [7] Andreadis A, Brown WM, Kosik KS. Structure and novel exons of the human Tau gene[J]. *Biochemistry*, 1992, 31(43):10 626-10 633.
- [8] Goode BL, Chau M, Denis PE, et al. Structural and functional differences between 3-repeat and 4-repeat Tau isoforms: Implications for normal Tau function and the onset of neurodegenerative disease [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(49):38 182-38 189.
- [9] Mandelkow E, von Bergen M, Biernat J, et al. Structural principles of Tau and the paired helical filaments of Alzheimer's disease[J]. *Brain Pathol*, 2007, 17(1): 83-90.
- [10] Rosenberg KJ, Ross JL, Feinstein HE, et al. Complementary dimerization of microtubule-associated Tau protein: implications for microtubule bundling and Tau-mediated pathogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(21):7445-7450.
- [11] Mazanetz MP, Fischer PM. Untangling Tau hyperphosphorylation in drug design for neurodegenerative diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6(6):464-479.
- [12] Shahani N, Brandt R. Functions and malfunctions of the Tau proteins[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2002, 59(10):1668-1680.
- [13] Liu Y, Liu F, Iqbal K, et al. Decreased glucose transporters correlate to abnormal hyperphosphorylation of Tau in Alzheimer disease[J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(2): 359-364.
- [14] Deng Y, Li B, Liu F, et al. Regulation between O-GlcNAcylation and phosphorylation of neurofilament-M and their dysregulation in Alzheimer disease[J]. *FASEB J*, 2008, 22(1):138-145.
- [15] Goedert M. Tau gene mutations and their effects[J]. *Mov Disord*, 2005, 12:S45-S52.
- [16] Andre F, Hatzis C, Anderson K, et al. Microtubule associated protein-Tau is a bifunctional predictor of endocrine sensitivity and chemotherapy resistance in estrogen receptor positive breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(7):2061-2067.
- [17] Ikeda H, Taira N, Hara F, et al. The estrogen receptor influences microtubule-associated protein Tau (MAPT) expression and the selective estrogen receptor inhibitor fulvestrant downregulates MAPT and increases the sensitivity to taxane in breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Res*, 2010, 12(3):R43.
- [18] Andre F, Mazouni C, Liedtke C, et al. HER-2 expression and efficacy of preoperative paclitaxel/FAC chemotherapy in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 108(2):183-190.
- [19] Pentheroudakis C, Kalogeras KT, Wirtz RM, et al. Gene expression of estrogen receptor, progesterone receptor and microtubule-associated protein Tau in high-risk early breast cancer a quest for molecular predictors[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 116(1):131-143.
- [20] Tanaka S, Nohara T, Iwamoto M, et al. Tau expression and efficacy of paclitaxel treatment in metastatic breast cancer[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 64(2):341-346.
- [21] Pusztai L, Jeong JH, Gong Y, et al. Evaluation of Micro-tubule-Associated Protein-Tau Expression As a Prognostic and Predictive Marker in the NSABP-B 28 Randomized Clinical Trial[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(26):4287-4292.
- [22] Kar S, Fan J, Smith MJ, et al. Repeat motifs of Tau bind to the insides of microtubules in the absence of taxol[J]. *EMBO J*, 2003, 22(1):70-77.
- [23] Al-Bassam J, Ozer RS, Safer D, et al. MAP2 and Tau bind longitudinally along the outer ridges of microtubule protofilaments[J]. *J Cell Biol*, 2002, 157(7):1187-1196.
- [24] Makrides V, Masie MR, Feinstein SC, et al. Evidence for two distinct binding sites for Tau on microtubules[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(17):6746-6751.
- [25] Wagner P, Wang B, Clark E, et al. Microtubule-associated protein (MAP)-Tau: a novel mediator of paclitaxel sensitivity

*in vitro* and *in vivo*[J]. Cell Cycle, 2005, 4(9):1149-1152.

- [26] Hess KR, Anderson K, Symmans WF, et al. Pharmacogenomic predictor of sensitivity to preoperative chemotherapy with paclitaxel and fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide in breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(26):4236-4244.
- [27] Peintinger F, Anderson K, Mazouni C, et al. Thirty-gene pharmacogenomic test correlates with residual cancer burden after preoperative chemotherapy breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(14):4078-4082.
- [28] Shao YY, Kuo KT, Hu FC, et al. Predictive and prognostic values of Tau and ERCC1 in advanced breast cancer patients treated with paclitaxel and cisplatin[J]. Jpn J Clin Oncol, 2010, 40(4):286-293.
- [29] Rody A, Karn T, Gätje R, et al. Gene expression profiling of breast cancer patients treated with docetaxel, doxorubicin, and cyclophosphamide within the GEPARTRIO trial HER-2, but not topoisomerase II alpha and microtubule-associated protein Tau, is highly predictive of tumor response[J]. Breast, 2007, 16(1):86-93.
- [30] Dumontet C, Krajewska M, Treilleux I, et al. BCIRG 001 molecular analysis: prognostic factors in node-positive breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(15):3988-3997.

(收稿日期:2010-07-14)

(本文编辑:罗承丽)

邓权通. Tau 与乳腺癌紫杉醇化疗敏感性关系的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2011, 5(3): 330-336.