

· 综述 ·

有丝分裂激酶 Aurora-A 介导乳腺癌发生与耐药的研究进展

谢杰锋^{1,2} 姚昶³ 张亚男^{1,2}

有丝分裂激酶 Aurora-A 是哺乳动物细胞 Aurora 激酶家族中的成员之一。Aurora-A 通过参与中心体的分离、成熟以及两极纺锤体的建立,从而确保有丝分裂中染色体正确分离和细胞质分裂顺利完成,在细胞周期中起着重要的作用。其过表达与乳腺癌密切相关。笔者就 Aurora-A 与乳腺癌发生及耐药的关系进行综述。

1 Aurora-A 概述

1994 年, Tanner 等^[1]利用比较基因组杂交与 FISH 的方法在多种人乳腺癌细胞系中发现了一个定位于 20q13 的高频率扩增子,在排除此区域已发现的癌基因后,认定它为一个新的乳腺癌相关基因。此基因主要编码一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,被命名为 Aurora-A,与 Aurora-B、Aurora-C 一起统称为 Aurora 激酶家族。人类编码 Aurora-A 的基因位于染色体 20q13,全长有 9 个外显子,包含 1 212 bp 的开放阅读框,编码一种由 403 个氨基酸组成、相对分子质量为 46 000 的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。Aurora-A 的蛋白结构包括 N 端的定位结构域和 C 端的催化结构域。其中, N 端结构域以微管依赖的方式使 Aurora-A 蛋白定位于中心体, C 端的结构域是 Aurora-A 执行激酶活性的区域,也是 Aurora 家族成员的保守结构域。

Aurora-A 对细胞有丝分裂有重要作用。Aurora-A 在有丝分裂 S 期开始累积,在 G₂/M 期被活化,活化的 Aurora-A 在 M 期沿着纺锤体分布至中间区,大部分蛋白在细胞质分裂之前就被灭活或降解, G₁ 早期只能检测到低水平的 Aurora-A 表达。Aurora-A 的这种表达变化和定位规律表现

出其作为有丝分裂激酶的功能特点^[2]。Aurora-A 参与调控细胞进入有丝分裂期、纺锤体形成、中心体成熟以及染色体正常分离等。在中心体成熟过程中,中心粒开始核化并组装微管,这一过程离不开中心体基质。Aurora-A 能帮助中心体募集这些物质,如 γ -微管蛋白、酸性卷曲转化相关蛋白等,并使它们正常定位于中心体。Aurora-A 还能调控细胞进入分裂周期。细胞进入有丝分裂期依赖于细胞周期蛋白依赖性激酶 1/细胞周期蛋白 B (CDK1/cyclin B) 的调控,而 CDK1/cyclin B 首先在中心体被激活。Aurora-A 帮助 CDK1/cyclin B 定位于中心体后,通过磷酸化抗细胞分裂周期 25B 的 353 位丝氨酸,使 CDK1/cyclin B 活化。Aurora-A 还通过与 BRCA1 的羧基端相互作用来调控 G₂/M 期的转换,这种相互作用帮助 BRCA1 定位到中心体。同时, Aurora-A 使 BRCA1 的 S308 位点被磷酸化,而后调控细胞进入 M 期。最近有研究揭示, Aurora-A 与 BRCA1 是通过 P53 与细胞周期素 A 对细胞周期进行调控的^[3]。研究证实,干扰 Aurora-A 使其表达降低后,会导致细胞周期受阻,影响纺锤体的形成与中心体的成熟,而敲除 Aurora-A 基因后,体外培养细胞出现有丝分裂缺陷、非整倍体形成,体内试验则出现多种组织细胞低水平增殖,表现为 Ki67 低表达或细胞增殖率降低^[4]。

2 Aurora-A 与乳腺癌发生的关系及可能的致癌机制

Aurora-A 过表达在乳腺癌细胞中普遍存在。Sen 等^[5]使用 Southern 和 Northern 杂交方法,在乳腺癌细胞系 (SKBR3、MCF-7、BT474) 中发现 Aurora-A 的 DNA 与 mRNA 表达量明显高于正常乳腺组织,并将扩增的 DNA 片段命名为乳腺肿瘤扩增激酶。Miyoshi 等^[6]通过实时 PCR 定量法检

测到 47 例乳腺癌和 9 例正常乳腺组织中 Aurora-A 的 mRNA 含量分别为 0.310 ± 0.413 和 0.044 ± 0.029 ($P < 0.01$)。这提示 Aurora-A 过表达与乳腺恶性肿瘤之间存在某种相关性,并且组织学分级越高,Aurora-A 扩增水平越高^[7]。另有研究表明,Aurora-A 过表达可以导致乳腺恶性肿瘤形成^[8]。

Aurora-A 对有丝分裂的异常调控导致染色体不稳定,使其易于发生变异。Aurora-A 过表达导致中心体扩增,已在细胞培养与小鼠模型中被证实^[9]。中心体在细胞有丝分裂过程中的作用包括调节微管的数量、稳定性、极性和空间分布,以及建立两极纺锤体,确保细胞分裂过程的对称性和双极性。中心体扩增可导致纺锤体异常,最终使染色体发生错误分离,形成非整倍体。而 Aurora-A 在中心体的成熟、分离和微管组装等过程中发挥了一定的作用,其过表达可导致染色体不稳定^[10],包括中心体扩增、四倍染色体形成、未成熟姐妹染色单体分离等,导致细胞转化,进而形成肿瘤^[11]。

P53 与 Aurora-A 相互作用可能推动了乳腺肿瘤的发生、发展。p53 是一个重要的抑癌基因,具有促进损伤细胞凋亡、维持基因组稳定性、抑制血管新生等作用,其突变或失活则可引起肿瘤形成。Aurora-A 过表达和 P53 功能缺失可使细胞产生相似的细胞表型,表现为中心体扩增和染色体非整数倍出现^[12]。在人类肿瘤中,Aurora-A 高表达与 P53 低表达呈正相关。Aurora-A 可以通过磷酸化调控 P53,抑制 P53 的活性,并促进其泛素化且发生依赖于鼠双微体 2 的降解,这一效应是通过 Aurora-A 磷酸化 P53 的 315 位丝氨酸来实现的^[13]。在动物模型中,MMTV-Aurora-A 转基因小鼠在 4 月龄时出现中心体扩增和异倍体,在 9 月龄时开始出现肉眼可见的乳腺肿瘤,在 20 月龄时 40% 的小鼠发生了乳腺癌;而在 P53 (+/-) 突变的情况下,转基因鼠 6 月龄时就发生了肿瘤,18 月龄时致癌率达 70%,其致癌时间和致癌率明显高于无 P53 (+/-) 突变的转基因鼠^[8]。这些结果均提示 P53 (+/-) 突变促进了乳腺中高表达的 Aurora-A 的致癌性。过表达的 Aurora-A 还能磷酸化 P53 的 215 位丝氨酸,抑制 P53 的 DNA 结合能力及转录激活能力,从而抑制下游效应靶基因如 P2 和 PTEN 的表达。另外,P53 能反馈性抑制 Aurora-A 的癌基因活性,同时这种作用可被 Xklp2

靶蛋白(targeting protein for Xklp2, TPX2)所阻滞,可能与 TPX2 介导的 Aurora-A 变构激活相关^[14]。

促分裂素原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)是一种 Ser/Thr 蛋白激酶,通常在不同的信号转导途径中充当一种共同的信号转导成分,在细胞周期调控、基因表达调控和细胞质功能活动中发挥重要作用。另外,Ras/Raf/MEK1/ERK/MAPK 激酶通路增强会使细胞对生长信号的反应增强,从而加速恶性肿瘤的生长与扩散。当 MAPK 被抑制时,Aurora-A 及其相关蛋白如着丝粒蛋白 A、TPX2 相应下调。双特异性磷酸酶 6(dual specificity phosphatases 6, DUSP6)是 MAPK1 的特异性磷酸酶。在 DUSP6 低表达的癌细胞中导入外源性 DUSP6,可以使 MAPK1 去磷酸化,下调 Aurora-A 水平,最终抑制细胞生长并诱导细胞凋亡。因此,Aurora-A 作为 MAPK 信号通路的下游靶点,体现出促进细胞增殖的能力^[15]。

Aurora-A 还能磷酸化其他多种底物来参与调控乳腺恶性肿瘤的发生、发展。Aurora-A 通过降低 BRCA1 的 E3 泛素连接酶活性而降低 BRCA1 抑制中心体微管成核的功能,从而影响细胞周期的变化^[16]。乳腺癌细胞在营养缺乏的环境下处于长期代谢应激状态,这可激活糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)/mTOR 信号通路,从而增强细胞的自我吞噬作用。通过这种机制可缓解受损 DNA 的累积。而 Aurora-A 能抑制 GSK3 β 的这种作用,使异常细胞的自我吞噬水平降低,避免其死亡或凋亡,从而促进肿瘤的发展。在人乳腺癌细胞样本中,Aurora-A 表达水平与癌细胞自噬呈负相关,但通过重构 GSK3 β 活性并不能完全抑制 mTOR 信号,提示 Aurora-A 还通过其他机制调控 mTOR 信号通路^[17]。

3 Aurora-A 与乳腺癌耐药

在乳腺癌患者中,ER 阳性者较阴性者的预后好,并对内分泌治疗有效,但也有部分 ER 阳性的患者对内分泌治疗产生耐药。近年的研究表明,在 ER 阳性乳腺癌细胞中,Aurora-A 能激活 SMAD5 核信号通路,下调 ER α 表达,可使 ER 阳性乳腺癌细胞对内分泌治疗的敏感性降低^[18]。另外,Aurora-A 通过磷酸化 ER α 增加了 ER α 阳性乳腺癌对他莫昔芬的耐药性,而 Aurora-A 的小分子激酶抑制剂 MLN8237 能明显抑制 Aurora-A 的

活性及 ER α 的 Ser167 和 Ser305 磷酸化,从而逆转这种耐药性;联合应用 MLN8237 和他莫昔芬能够明显增加耐药乳腺癌细胞的凋亡,并提高对他莫昔芬耐药的 ER 阳性乳腺癌患者的内分泌治疗疗效^[19]。

最近有研究显示,Aurora-A 可促进共济失调-毛细血管扩张突变基因/细胞周期检查点激酶 2 (ataxia telangiectasis mutated/cell cycle checkpoint kinases 2, ATM/Chk2) 的表达^[20],从而通过调控细胞 DNA 损伤修复网络来增强细胞对卡铂的耐药性,而特异性 ATM 抑制剂 KU-55933 已经显示出很好的增强卡铂化疗敏感性的效果,这可能与 P53 的磷酸化有关。紫杉醇是继蒽环类药物之后治疗乳腺癌的一线化疗药,但也面临着肿瘤细胞耐药的问题。紫杉醇治疗的耐药与纺锤体集合检查点和细胞凋亡信号调节有明显相关性。Aurora-A 过表达干扰纺锤体、微管附着,破坏纺锤体检查点的调节作用,使有异常染色体的细胞即异倍体细胞可以越过纺锤体装配检查点进入有丝分裂后期,这与肿瘤的形成可能有关^[21],而且 Aurora-A 过表达细胞可越过纺锤体装配检查点,导致作用于纺锤体微管的药物紫杉醇产生耐药性。在乳腺癌 SK-BR-3 和 MDA-MB-231 细胞中,利用腺病毒 RNA 干扰 Aurora-A 使其 mRNA 及蛋白水平降低后,细胞增殖受到抑制,同时,这两种细胞系对紫杉醇药物的敏感性都有增强^[22]。

4 结语

Aurora-A 通过与不同底物的磷酸化作用,参与细胞的有丝分裂过程以及调控多种细胞信号通路,其过表达可导致细胞恶性转化。虽然目前 Aurora-A 的致瘤机制尚未完全阐明,但其抑制剂已显示出明显的抗肿瘤效果,并且能逆转乳腺癌对某些化疗药物的耐药^[23]。随着对 Aurora-A 研究的不断深入和完善,以及其抑制剂的临床试验的不断开展,最终有望使 Aurora-A 成为一个新的有效的乳腺癌治疗靶点。

【关键词】 蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶; 乳腺肿瘤; 抗药性, 肿瘤

【中图法分类号】 R737.9 【文献标志码】 A

参 考 文 献

- [1] Tanner MM, Tirkkonen M, Kallioniemi A, et al. Increased copy number at 20q13 in breast cancer: defining the critical region and exclusion of candidate genes[J]. *Cancer Res*, 1994, 54(16):4257-4260.
- [2] Nikonova AS, Astsurov I, Serebriiskii IG, et al. Aurora A kinase (AURKA) in normal and pathological cell division[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(4): 661-687.
- [3] Wang Y, Wang Z, Qi Z, et al. The negative interplay between Aurora A/B and BRCA1/2 controls cancer cell growth and tumorigenesis via distinct regulation of cell cycle progression, cytokinesis, and tetraploidy[J]. *Mol Cancer*, 2014, 13:94.
- [4] Pérez de Castro I, Aguirre-Portolés C, Fernández-Miranda G, et al. Requirements for Aurora-A in tissue regeneration and tumor development in adult mammals[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(22):6804-6815.
- [5] Sen S, Zhou H, White RA. A putative serine/threonine kinase encoding gene BTAK on chromosome 20q13 is amplified and overexpressed in human breast cancer cell lines[J]. *Oncogene*, 1997, 14(18):2195-2200.
- [6] Miyoshi Y, Iwao K, Egawa C, et al. Association of centrosomal kinase STK15/BTAK mRNA expression with chromosomal instability in human breast cancers[J]. *Int J Cancer*, 2001, 92(3):370-373.
- [7] Rouquier S, Pillaire MJ, Cazaux C, et al. Expression of the microtubule-associated protein MAP9/ASAP and its partners AURKA and PLK1 in colorectal and breast cancers[J]. *Dis Markers*, 2014, 2014:798 170.
- [8] Wang X, Zhou YX, Qiao W, et al. Overexpression of Aurora kinase A in mouse mammary epithelium induces genetic instability preceding mammary tumor formation[J]. *Oncogene*, 2006, 25(54):7148-7158.
- [9] Meraldi P, Honda R, Nigg EA. Aurora-A overexpression reveals tetraploidization as a major route to centrosome amplification in p53^{-/-} cells[J]. *EMBO J*, 2002, 21(4): 483-492.
- [10] Zhang H, Chen X, Jin Y, et al. Overexpression of Aurora-A promotes laryngeal cancer progression by enhancing invasive ability and chromosomal instability[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2012, 269(2):607-614.
- [11] Roylance R, Endesfelder D, Jamal-Hanjani M, et al. Expression of regulators of mitotic fidelity are associated with intercellular heterogeneity and chromosomal instability in primary breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 148(1):221-229.
- [12] Oda-Sato E, Tanaka N. Abnormal centrosome amplification and Aurora-A activation in p53-deficient cells[J]. *J Nippon Med Sch*, 2007, 74(6):384-385.
- [13] Katayama H, Sasai K, Kawai H, et al. Phosphorylation by Aurora kinase A induces Mdm2-mediated destabilization and inhibition of p53[J]. *Nat Genet*, 2004, 36(1):55-62.
- [14] Zorba A, Buosi V, Kutter S, et al. Molecular mechanism of Aurora A kinase autophosphorylation and its allosteric activation

- by TPX2[J]. Elife, 2014, 3: e02667.
- [15] Furukawa T, Kanai N, Shiwaoku HO, et al. AURKA is one of the downstream targets of MAPK1/ERK2 in pancreatic cancer[J]. Oncogene, 2006, 25(35): 4831-4839.
- [16] Sankaran S, Crone DE, Palazzo RE, et al. Aurora-A kinase regulates breast cancer associated gene 1 inhibition of centrosome-dependent microtubule nucleation[J]. Cancer Res, 2007, 67(23): 11 186-11 194.
- [17] Xu LZ, Long ZJ, Peng F, et al. Aurora kinase a suppresses metabolic stress-induced autophagic cell death by activating mTOR signaling in breast cancer cells[J]. Oncotarget, 2014, 5(17): 7498-7511.
- [18] Opyrchal M, Salisbury JL, Zhang S, et al. Aurora-A mitotic kinase induces endocrine resistance through down-regulation of ER α expression in initially ER α + breast cancer cells[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e96995.
- [19] Zheng XQ, Guo JP, Yang H, et al. Aurora-A is a determinant of tamoxifen sensitivity through phosphorylation of ER α in breast cancer[J]. Oncogene, 2014, 33(42): 4985-4996.
- [20] Sun H, Wang Y, Wang Z, et al. Aurora-A controls cancer cell radio- and chemoresistance via ATM/Chk2-mediated DNA repair networks[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843(5): 934-944.
- [21] Katayama H, Wang J, Treekitkarnmongkol W, et al. Aurora kinase-A inactivates DNA damage-induced apoptosis and spindle assembly checkpoint response functions of p73[J]. Cancer Cell, 2012, 21(2): 196-211.
- [22] Long M, Yin G, Liu L, et al. Adenovirus-mediated Aurora A shRNA driven by stathmin promoter suppressed tumor growth and enhanced paclitaxel chemotherapy sensitivity in human breast carcinoma cells[J]. Cancer Gene Ther, 2012, 19(4): 271-281.
- [23] Li JP, Yang YX, Liu QL, et al. The investigational Aurora kinase A inhibitor alisertib (MLN8237) induces cell cycle G2/M arrest, apoptosis, and autophagy via p38 MAPK and Akt/mTOR signaling pathways in human breast cancer cells[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 1627-1652.

(收稿日期: 2015-03-12)

(本文编辑: 罗承丽)

谢杰锋, 姚昶, 张亚男. 有丝分裂激酶 Aurora-A 介导乳腺癌发生与耐药的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2015, 9(5): 326-329.