

· 综述 ·

肿瘤相关基质金属蛋白酶在乳腺癌中的研究进展

黄红颜 谭金祥 任国胜

癌症的发病率和病死率在发达国家一直居高不下。2013 年美国癌症协会大样本调查显示每天大约有 1 600 名美国公民死于癌症,而乳腺癌是继肺癌之后女性死亡的第二号杀手^[1-2]。随着中国经济的快速发展及人们生活节奏的加快,乳腺癌的发病率有所上升,并渐趋年轻化。乳腺癌的发病机制十分复杂,涉及肿瘤细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)间的相互作用,是多因素、多步骤的连续过程。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)在乳腺癌侵袭转移过程中起着重要作用。本文就与肿瘤密切相关的 MMPs 即肿瘤相关性基质金属蛋白酶(cancer-associated matrix metalloproteinases, CAMMPs)在乳腺癌中的作用作一综述^[3]。

1 MMPs 的生物学特征

1.1 MMPs 的来源和分类

ECM 的降解参与正常组织器官生理重塑过程如胚胎形成、组织修复等,同样参与一些疾病的发生,如关节炎、心血管疾病和癌症等。多种蛋白酶参与 ECM 降解,其中一个关键的酶类家族为 MMPs, MMPs 是锌依赖性内肽酶家族。MMPs 主要来源于微环境中基质细胞如中性粒细胞、巨噬细胞、树突状细胞、淋巴细胞、内皮细胞、成纤维细胞以及造血干细胞^[3]。目前人类有 23 种 MMPs 家族成员,根据结构域和作用底物不同,将 MMPs 分为六类:(1)胶原酶类(MMP-1、MMP-8、MMP-13);(2)白明胶酶类(MMP-2、MMP-9);(3)间质溶解素(MMP-3、MMP-10);(4)基质溶解素(MMP-7、MMP-11、MMP-26);(5)膜型 MMPs(MMP-14、MMP-15、MMP-16、MMP-17、MMP-24、MMP-25);(6)其他(MMP-12、MMP-19、MMP-20、MMP-21、

MMP-23、MMP-27、MMP-28)^[4]。

1.2 MMPs 的结构和功能

在人类 23 种 MMPs 中,基本结构包括信号肽、前肽、催化域,另外在一些 MMPs 中还存在其他特殊结构域,如:(1)纤维连接蛋白重复序列(MMP-2、MMP-9);(2)血红素结构(MMP-23 除外);(3)跨膜结构域(MMP-14、MMP-15、MMP-16、MMP-23、MMP-24)等。MMPs 调控一系列生理过程及信号事件,操控细胞表面一些生物活性分子,并改变细胞自身生物学行为,在肿瘤微环境中扮演着重要角色。然而在绝大部分肿瘤微环境中, MMPs 发挥其蛋白水解活性的位置及时间尚不清楚^[3-4]。越来越多的研究证实 MMPs 与肿瘤发生发展密切相关,其中较为显著的为 MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-11 和 MMP-14^[3,5-6]。Meta 分析显示:MMP-2、MMP-9、MMP-11、MMP-14 在乳腺癌中的高表达与患者的不良预后相关^[7]。目前将这些与肿瘤密切相关的 MMPs 称为 CAMMPs。

2 CAMMPs 在乳腺癌中的作用

2.1 CAMMPs 在乳腺癌细胞凋亡中的作用

细胞凋亡由细胞外受体(如 Fas)启动,激活细胞内一系列蛋白水解,最终导致细胞内细胞器及细胞核被选择性降解。MMP-7 通过阻断 Fas/FasL 受体与配体结合,保护肿瘤细胞免遭多柔比星等化疗药物诱导凋亡^[8]。在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株中过表达抑癌基因 PLCD1,发现 MMP-7 表达下调,细胞凋亡数量明显增加,反向说明 MMP-7 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株有明显抗凋亡作用^[9]。MMP-7 通过切割细胞生长因子、细胞表面受体、细胞黏附分子等改变肿瘤细胞生物学行为,同时,被切割掉的这些因子可以诱导 MMP-7 调节抗凋亡细胞的产生,反过来促进肿瘤细胞具有更强的侵袭性^[10]。部分 MMPs(MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-11)可促进乳腺癌细胞发生自发性凋亡而扩大抗凋亡的癌细胞数量^[11]。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2015.06.009

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81102008)

作者单位:400016 重庆医科大学第一附属医院内分泌乳腺外科

通信作者:谭金祥,Email:tjx1202@163.com

Takeuchi 等^[5]在乳腺癌 MDA-MB-330 细胞株体外实验证实, MMP-11 可保护乳腺小叶癌细胞, 避免失巢凋亡(anoikis), 但其机制还不清楚。

2.2 CAMMPs 在乳腺癌脉管重构中的作用

肿瘤血管系统主要来源于周围组织血管再生。新生血管由于缺乏外膜细胞覆盖而形态不规则且功能存在缺陷, 以至于肿瘤细胞更加容易渗入。MMP-14 是一种膜结合蛋白酶, 在细胞修复及渗入 ECM 的过程中起关键作用, MMP-14 与其他部分 MMPs 家族成员一样可促进肿瘤血管形成, 至少通过以下两种途径: (1) 降解血管形成屏障(如细胞基质), 促进血管内皮细胞生成; (2) 释放维持血管生成表型的一些因子来促进血管生成^[12]。在 MMP-14 敲除型小鼠模型中, 发现乳腺癌组织血管形成障碍, 在乳腺癌细胞株中加入 DX2400 (MMP-14 抑制剂) 能够明显抑制血管生成能力, 反向证实 MMP-14 具有促进乳腺癌血管形成的能力^[13]。MMPs 抑制剂 RECK 能抑制 MMP-14、MMP-2、MMP-9 的分泌和蛋白活性, RECK 在正常乳腺组织呈高表达, 在肿瘤组织却不表达^[14]。在转染空质粒的乳腺肿瘤中血管正常生成, 而转染 RECK 质粒后乳腺肿瘤中血管生成障碍, 这说明 MMP-14、MMP-2、MMP-9 及其抑制剂在乳腺肿瘤血管生成中起着关键性作用。通过辐射阻止血管生成后, 移植瘤在 MMP-9 缺陷小鼠中不能生长, 而在恢复 MMP-9 正常表达小鼠中能正常存活, 嗜中性粒细胞分泌的 MMP-9 前体进入血液被迅速激活后, 促进肿瘤血管生成, 以上表明 MMP-9 在肿瘤血管生成中也发挥着重要作用^[15-16]。MMPs 具有调控血管稳定性和渗透性的能力, 尤其 MMP-14 通过活化转化生长因子 β (TGF- β) 调节血管对组织损伤及肿瘤进程的应答, 临床使用 TGF- β 信号通路抑制剂能够改善患者生存期^[17]。淋巴管生成直接关系到肿瘤淋巴转移, 其在肿瘤生物学发展过程中扮演着重要角色。MMP-2、MMP-9 与乳腺癌淋巴结侵袭及转移呈正相关^[6, 18], MMPs 调控肿瘤淋巴管生成的具体信号通路仍需进一步研究。

2.3 CAMMPs 在乳腺癌侵袭和转移中的作用

导致绝大部分肿瘤患者死亡的主要原因是肿瘤细胞远处转移及远处二次肿瘤的形成, 肿瘤转移初始需要肿瘤侵袭至外周组织导致肿瘤细胞侵入血管及淋巴管, 待肿瘤细胞到达第二个器官后完成肿瘤转移过程^[3]。肿瘤细胞完成侵袭转移需要解决体内一些物理屏障(如内皮基质膜等)。

MMP-1 是一种光谱胶原酶, 通过促进乳腺癌上皮样细胞发生上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 促进乳腺癌的发展, 同时 EMT 过程中级联反应产生大量的 MMP-1 分子, 进一步促进乳腺癌的侵袭^[19], MMP-1 作为下游信号分子促进乳腺癌的侵袭转移^[20-21]。Meta 分析发现 MMP-2 与乳腺癌淋巴结转移相关, 但并没有直接证据表明 MMP-2 作为浸润性乳腺癌的预后因子^[22]。MMP-2、MMP-9 切割促炎因子诱导细胞骨架重排, 减弱细胞间黏附能力, 促进乳腺癌侵袭转移^[23]。MMP-3 将 E-钙黏蛋白(细胞与细胞之间重要的黏附分子)切割成无活性小片段分子并伴随一系列重要分子改变, 从而导致 EMT 发生而促进乳腺癌的侵袭。Fernandez-Garcia 等^[24]通过免疫组织化学法检测乳腺癌中的纤连蛋白及 MMP-9 表达情况发现, 乳腺癌细胞产生的纤连蛋白与乳腺癌组织中单核细胞产生的 MMP-9、MMP-11 之间存在潜在循环通路, 从而促进乳腺癌侵袭转移, 纤连蛋白与 MMPs 也许可以作为共同的生物标志物, 为临床治疗乳腺癌提供靶点。MMP-11 参与各种疾病的进展, 尤其是肿瘤的侵袭、转移^[25]。有研究发现 MMP-13 在乳腺癌骨转移中扮演重要角色, 甚至 MMP-13 通过激活 MMP-9 及其他酶类而诱导乳腺癌骨转移的发生^[26]。

2.4 CAMMPs 在乳腺癌炎症反应中的作用

炎症和感染能够促进肿瘤进程, 尤其慢性炎症在肿瘤进展中必不可少, 由活化的免疫细胞产生促进肿瘤生长和进展的细胞因子是连接感染、免疫、炎症和肿瘤的重要桥梁之一。研究证实 MMPs 是这些过程的主要参与者^[27]。Overall 等^[28]提出双向扫描技术, 即将蛋白酶底物结合区域作为酵母两种混合剂, 鉴别出 MMP-2 血红素结构域结合单核细胞化学引诱蛋白-3(monocyte chemoattractant protein-3, MCP-3), 导致 MCP-3 被切割并从受体激动剂转变成强有力的拮抗剂, 从而减缓炎症反应。一些 MMPs (如 MMP-2、MMP-3、MMP-9) 将细胞因子 IL-1 β 前体活化成具有促炎活性的小分子, 有意思的是, MMP-3 也可以降解活化细胞因子 IL-1 β , 这提示 MMPs 在影响细胞因子 IL-1 β 活性上具有促进和抑制双重作用。一些 MMPs (如 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-13、MMP-14) 切割细胞趋化因子配体-12, 导致其结合受体的能力丧失, MMP-2 切割细胞趋化因子配体-7 导致其虽然能结合受体, 但却无法活化受体, 导致受体丧失功能^[29]。乳腺肿瘤细胞通过募

集炎性细胞,在建立能够促进自身存活、侵袭的微环境过程中产生较多可溶性分子,这些分子通过促进 MMP-1 表达,降解 ECM,促使上皮样细胞形态发生间质化,这提示 MMP-1 与肿瘤发生的起源息息相关^[30]。在肿瘤微环境中,中性粒细胞浸润与肿瘤的不良预后相关,中性粒细胞像其他炎性细胞一样促进趋化因子如 CXCL-1、CXCL-8 的表达,MMP-7 通过切割细胞表面分子而调控 CXCL-1 的生物活性^[31-32]。因此,MMPs 募集白细胞是肿瘤相关炎症反应中的重要部分之一。

2.5 CAMMPs 对乳腺癌微环境中脂肪细胞的作用

众所周知,脂肪组织是乳房的重要组成部分,而脂肪细胞是乳腺中主要的基质细胞之一。由于在乳腺肿瘤活组织检查病理图像中含有很少量脂肪细胞或者完全没有脂肪细胞,到目前为止,脂肪细胞在肿瘤发展侵袭过程中的作用仍被忽视。人乳腺癌组织切片 HE 染色显示,在原发肿瘤边缘具有大量脂肪细胞,在肿瘤侵袭前沿处脂肪细胞体积变小,数量变少,而在肿瘤中心发现较多的成纤维样细胞^[33]。因此,在乳腺癌发展过程中,脂肪细胞是重要且动态性参与者。目前研究发现脂肪细胞与癌细胞相互作用,增强癌细胞侵袭性,并促进肿瘤细胞生长及转移^[3,33-35]。对比分析相同基因背景的同窝小鼠乳腺及脂肪垫发现 MMP-11 敲除型青春小鼠乳腺导管及新生末端导管的密度明显少于 MMP-11 野生型,而脂肪细胞体积显著大于野生型^[36]。以上研究结果显示 MMP-11 对脂肪细胞生长具有明显抑制作用,而对乳腺癌的发生发展具有促进作用,其机制还不清楚。除了 MMP-11 与脂肪细胞相互作用而影响肿瘤发展,MMPs 其他成员与脂肪细胞也具有相互作用。脂肪因子(如瘦素/leptin)诱导 MMP-13 在肿瘤细胞表达而促进肿瘤迁移和侵袭^[30]。MMPs 影响脂肪组织的发展,反过来可能会影响上皮细胞。MMPs(特别是 MMP-3)在断奶退化后乳腺重塑过程中决定着脂肪细胞的分化率,上皮细胞发生凋亡的同时伴随着乳腺脂肪垫中脂肪细胞再生。MMP-3 突变型小鼠在乳腺退化过程中,脂肪分化加速,出现大量肥大的脂肪细胞。而 MMP-14 敲除型小鼠脂肪细胞在细胞外基质三维培养中呈现脂肪发育不良,这提示 MMP-14 通过蛋白水解作用调节细胞外胶原强度来调控脂肪形成^[37]。人类脂肪组织来源的间质干细胞与乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株共培养之后,发现细胞因子 CCL5 及 MMP-9 含量增加,同时 MDA-MB-231 细胞侵袭

性增强。MMPs 对肿瘤细胞和邻近脂肪细胞(或前脂肪细胞)之间的双向调控在乳腺癌进程中起关键作用,也许 MMPs 是联系肥胖和乳腺癌之间一个潜在的纽带之一。

3 展望

乳腺癌已经成为影响广大女性健康的主要疾病之一。目前针对乳腺癌的治疗多种多样,也取得了很大进展,但乳腺癌转移以及治疗耐药严重困扰着临床医师。随着 MMPs 家族成员不断被发现,其降解 ECM 功能为治疗乳腺癌提供了一个重要线索。MMPs 成员之间是否相互作用?是否与肿瘤微环境中的相关基质细胞(如脂肪细胞、炎性细胞等)相互作用及其作用机制是什么?目前,CAMMPs 及其抑制剂作为治疗乳腺癌靶向药物的研究甚少,尚未见明确报道,它们能否为治疗乳腺癌提供新的希望?以上问题尚待进一步研究探讨。

【关键词】 基质金属蛋白酶; 乳腺肿瘤; 肿瘤微环境

【中图分类号】 R737.9 【文献标志码】 A

参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1):5-29.
- [2] DeSantis C, Ma J, Bryan L, et al. Breast cancer statistics, 2013 [J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1):52-62.
- [3] Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment [J]. Cell, 2010, 141(1):52-67.
- [4] Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research [J]. Mol Aspects Med, 2008, 29(5):290-308.
- [5] Takeuchi T, Adachi Y, Nagayama T, et al. Matrix metalloproteinase-11 overexpressed in lobular carcinoma cells of the breast promotes anoikis resistance [J]. Virchows Arch, 2011, 459(3):291-297.
- [6] Wu QW, Yang QM, Huang YF, et al. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase-9 in lymphatic invasiveness and metastasis of breast cancer [J]. PLoS One, 2014, 9(5):e97804.
- [7] Cathcart J, Pulkoski-Gross A, Cao J. Targeting matrix metalloproteinases in cancer: bringing new life to old ideas [J]. Genes Dis, 2015, 2(1):26-34.
- [8] Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting [J]. FEBS J, 2011, 278(1):16-27.
- [9] Mu H, Wang N, Zhao L, et al. Methylation of PLCD1 and adenovirus-mediated PLCD1 overexpression elicits a gene therapy effect on human breast cancer [J]. Exp Cell Res, 2015, 332(2):179-189.
- [10] Fernández-Guinea O, Álvarez-Cofiño A, Eiró N, et al. Low microvascular density at the tumor center is related to the

- expression of metalloproteases and their inhibitors and with the occurrence of distant metastasis in breast carcinomas. *Int J Clin Oncol*, 2013, 18(4):629-640.
- [11] Davies KJ. The complex interaction of matrix metalloproteinases in the migration of cancer cells through breast tissue stroma [J]. *Int J Breast Cancer*, 2014, 2014:839-894.
- [12] Solov'eva NI, Timoshenko OS, Kugaevskaia EV, et al. Key enzymes of degradation and angiogenesis as a factor of tumor progression in squamous cell carcinoma of the cervix [J]. *Bioorg Khim*, 2014, 40(6):743-751.
- [13] Ager EI, Kozin SV, Kirkpatrick ND, et al. Blockade of MMP14 activity in murine breast carcinomas: implications for macrophages, vessels, and radiotherapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107(4):djv017.
- [14] Vinotini G, Aravindraja C, Chitrathara K, et al. Correlation of matrix metalloproteinases and their inhibitors with hypoxia and angiogenesis in premenopausal patients with adenocarcinoma of the breast [J]. *Clin Biochem*, 2011, 44(12):969-974.
- [15] Darakhshan S, Bidmeshkipour A, Khazaei M, et al. Synergistic effects of tamoxifen and tranilast on VEGF and MMP-9 regulation in cultured human breast cancer cells [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(11):6869-6874.
- [16] Leifler KS, Svensson S, Abrahamsson A, et al. Inflammation induced by MMP-9 enhances tumor regression of experimental breast cancer [J]. *J Immunol*, 2013, 190(8):4420-4430.
- [17] Sounni NE, Dehne K, van Kempen L, et al. Stromal regulation of vessel stability by MMP14 and TGFβ [J]. *Dis Model Mech*, 2010, 3(5-6):317-332.
- [18] Ingvarsen S, Porse A, Ericum C, et al. Targeting a single function of the multifunctional matrix metalloprotease MT1-MMP: impact on lymphangiogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(15):10 195-10 204.
- [19] Cierna Z, Mego M, Janega P, et al. Matrix metalloproteinase 1 and circulating tumor cells in early breast cancer [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14:472.
- [20] Wu K, Fukuda K, Xing F, et al. Roles of the cyclooxygenase 2 matrix metalloproteinase 1 pathway in brain metastasis of breast cancer [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(15):9842-9854.
- [21] Sendon-Lago J, Seoane S, Eiro N, et al. Cancer progression by breast tumors with Pit-1-overexpression is blocked by inhibition of metalloproteinase (MMP)-13 [J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(6):505.
- [22] Chen Y, Wang X, Chen G, et al. The impact of matrix metalloproteinase 2 on prognosis and clinicopathology of breast cancer patients: a systematic meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0121404.
- [23] Platt D, Amara S, Mehta T, et al. Violacein inhibits matrix metalloproteinase mediated CXCR4 expression: potential anti-tumor effect in cancer invasion and metastasis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 455(1-2):107-112.
- [24] Fernandez-Garcia B, Eiró N, Marín L, et al. Expression and prognostic significance of fibronectin and matrix metalloproteases in breast cancer metastasis [J]. *Histopathology*, 2014, 64(4):512-522.
- [25] Kwon YJ, Hurst DR, Steg AD, et al. Gli1 enhances migration and invasion via up-regulation of MMP-11 and promotes metastasis in ERα-negative breast cancer cell lines [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2011, 28(5):437-449.
- [26] Pivetta E, Scapolan M, Pecolo M, et al. MMP-13 stimulates osteoclast differentiation and activation in tumour breast bone metastases [J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(5):R105.
- [27] Vandenbroucke RE, Libert C. Is there new hope for therapeutic matrix metalloproteinase inhibition? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(12):904-927.
- [28] Overall CM. Molecular determinants of metalloproteinase substrate specificity: matrix metalloproteinase substrate binding domains, modules, and exosites [J]. *Mol Biotechnol*, 2002, 22(1):51-86.
- [29] Hendry RG, Bilawchuk LM, Marchant DJ. Targeting matrix metalloproteinase activity and expression for the treatment of viral myocarditis [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2014, 7(2):212-225.
- [30] Chimal-Ramírez GK, Espinoza-Sánchez NA, Utrera-Barillas D, et al. MMP1, MMP9, and COX2 expressions in promonocytes are induced by breast cancer cells and correlate with collagen degradation, transformation-like morphological changes in MCF-10A acini, and tumor aggressiveness [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013:279505.
- [31] Toomer KH, Chen Z. Autoimmunity as a double agent in tumor killing and cancer promotion [J]. *Front Immunol*, 2014, 5:116.
- [32] Li Q, Park PW, Wilson CL, et al. Matrilysin shedding of syndecan-1 regulates chemokine mobilization and transepithelial efflux of neutrophils in acute lung injury [J]. *Cell*, 2002, 111(5):635-646.
- [33] Tan J, Buache E, Chenard MP, et al. Adipocyte is a non-trivial, dynamic partner of breast cancer cells [J]. *Int J Dev Biol*, 2011, 55(7-9):851-859.
- [34] Dirat B, Bochet L, Dabek M, et al. Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(7):2455-2465.
- [35] Nieman KM, Kenny HA, Penicka CV, et al. Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth [J]. *Nat Med*, 2011, 17(11):1498-1503.
- [36] Tan J, Buache E, Alpy F, et al. Stromal matrix metalloproteinase-11 is involved in the mammary gland postnatal development [J]. *Oncogene*, 2014, 33(31):4050-4059.
- [37] Chun TH, Hotary KB, Sabeh F, et al. A pericellular collagenase directs the 3-dimensional development of white adipose tissue [J]. *Cell*, 2006, 125(3):577-591.

(收稿日期:2015-07-16)

(本文编辑:刘军兰)