

· 讲座 ·

胎盘特异性基因 1 与乳腺癌

刘东洋 陈凤

【摘要】 乳腺癌是造成女性死亡的主要原因之一,然而,其治疗及预后仍然面临重大挑战。胎盘特异性基因 1(PLAC1)在胎盘以外的正常组织中基本不表达,但在多种肿瘤细胞中均有表达,在乳腺癌细胞中表达尤其丰富,可能与乳腺癌细胞的增殖、浸润及转移相关。PLAC1 作为肿瘤特异性抗原,具有免疫原性,能诱导机体产生免疫应答,为乳腺癌的治疗提供了新的思路。针对 PLAC1 抗原表位的免疫治疗,可能具有重要的临床价值。笔者就 PLAC1 在乳腺癌中的研究现状进行介绍和分析。

【关键词】 蛋白质类; 胎盘; 乳腺肿瘤; 基因表达调控; 免疫; 胎盘特异性蛋白 1

【中图法分类号】 R737.9

【文献标志码】 A

胎盘特异性基因 1(placenta-specific 1, PLAC1)为癌-睾丸抗原(cancer-testis antigen, CT 抗原)家族中的成员,具有 CT 抗原的共性:(1)在正常组织的表达仅限于生殖细胞,或/和胎盘滋养层组织,但在肿瘤组织的表达呈广泛性;(2)编码基因位于 X 染色体;(3)对肿瘤患者具有免疫原性^[1]。自陈静等^[2]从肝癌细胞中克隆出肿瘤胎盘特异性基因 1(CP1),通过比对证实其序列就是 PLAC1 以来,有大量研究表明,PLAC1 在除胎盘外的正常组织细胞中基本不表达,而在多种肿瘤中出现特异性表达,其可以作为肿瘤特异性抗原诱导机体产生体液免疫及细胞免疫反应^[3],故其免疫原性为实体肿瘤的免疫治疗提供了新的思路^[4]。乳腺癌是所有肿瘤中引起女性死亡的第二位原因,尽管随着诊疗手段的进步,病死率有所降低,但是在诊疗中仍然面临着巨大挑战,尤其对于三阴性乳腺癌而言,尚没有明确的治疗靶点^[5]。在精准医疗的模式下,通过对 PLAC1 的研究可为乳腺癌的诊断及治疗提供新的思路。

一、PLAC1 的基本特征

1. PLAC1 基因的结构特点

PLAC1 定位在 Xq26.3,全长 92 641 bp,包含有 3 个外显子,第 3 外显子为编码区。随着基因测序的发展,学者们在原有 3 个外显子序列的上游又发现了 3 个外显子序列,即 PLAC1 共由 6 个外显子组成,最后一个外显子序列为基因编码区^[6]。PLAC1 基因含有 2 个启动子,即启动子 1(promoter 1, P1)和启动子 2(promoter 2, P2)。P1 位于第 1 个外显子的上游,P2 位于第 4 个外显子的上游。基因转录时对不同启动子的选择往往预示着不同的结局,在胎盘发育中,选择 P2 启动子,但在肿瘤细胞系中,多有 P1 及 P2 启动子的共同作

用,在人乳腺癌细胞系 MCF-7 中,主要为 P2 启动子启动基因表达后引起 PLAC1 蛋白的特异性表达^[7]。

2. PLAC1 在肿瘤中的表达

Silva 等^[3]通过测定 74 个肿瘤细胞系中 PLAC1 mRNA 的含量,证明了 PLAC1 在乳腺癌、宫颈癌、直肠癌、肝癌、肺癌等肿瘤细胞系中的表达量均明显增多。Liu 等^[8]对 119 例胃癌患者组织标本的研究提示,PLAC1 在胃癌组织中普遍特异性表达并且可以作为评估患者预后的生物标志物。赵瑞等^[9]研究了 PLAC1 在结直肠癌及其肝转移组织中的表达,与周围正常组织相比,PLAC1 表达量的差异同样具有统计学意义。Devor 等^[10]研究发现,PLAC1 在子宫内膜癌中特异性高表达。在乳腺癌患者中 PLAC1 的特异性表达更加显著。Kosowski 等^[11]对 62 例乳腺癌组织标本行免疫组织化学染色后发现,82% 乳腺癌标本 PLAC1 表达量达到基础水平的 100 倍以上,24% 乳腺癌标本 PLAC1 表达量为基础水平的 100~1 000 倍,40% 乳腺癌标本 PLAC1 表达量为基础水平的 1 000~10 000 倍,17% 乳腺癌标本 PLAC1 表达量在基础水平的 10 000 倍以上。

3. PLAC1 的组织细胞定位

在胎盘滋养层细胞中 PLAC1 基因表达产物定位在细胞膜上,是一种跨膜蛋白,对于维持胎盘功能及整个妊娠过程有重要的作用^[12]。Silva 等^[3]的研究也证实了 PLAC1 定位在胎盘组织的细胞膜上。Kosowski 等^[11]对 MCF-7 乳腺癌细胞系的免疫组织化学染色也表明,PLAC1 为一种跨膜蛋白,并且其抗原表位分布于细胞膜外侧,用特异性抗体封闭细胞膜表面 PLAC1 的抗原表位,可以降低肿瘤细胞的增殖、浸润和转移能力。Ghods 等^[13]用单克隆抗体进行 PLAC1 亚细胞定位的研究发现,在不同的细胞系中,PLAC1 的细胞定位是不同的,在乳腺癌细胞系中,PLAC1 可以同时定位在细胞膜及细胞质中。

PLAC1 的基本特征显示,在基因水平不同启动子的激活,影响着 PLAC1 蛋白在正常胎盘组织及异常肿瘤组织中

的表达,而且 PLAC1 在不同组织细胞中的不同定位也进一步决定了其功能的不同。

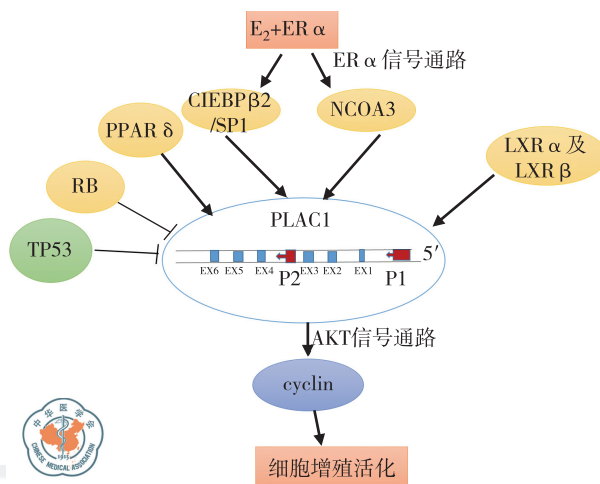
二、PLAC1 在乳腺癌中的作用机制

1. PLAC1 的上游调控基因

PLAC1 基因有 2 个启动子 P1 及 P2,不同细胞对于启动子的偏好性决定了细胞的不同命运,在人乳腺癌细胞系 MCF-7 中,优先选择 P2 启动子^[7]。Koslowski 等^[14]用荧光素报告系统的方法明确了 CCAAT-增强子结合蛋白 β 2/转录因子 SP1 (CCAAT-enhancer-binding protein β isoform 2/SP1 transcription factor, CEBP β 2/SP1) 在乳腺癌细胞中直接作用于 P2 启动子启动基因的表达。他们还进一步研究了雌激素信号通路,发现雌激素信号通路的激活对于 SP1 和启动子序列的结合并不必要,但是雌激素信号通路的激活能够进一步招募 CIEBP β 2 和启动子序列的结合,进而促进 PLAC1 基因的转录^[14]。Wagner 等^[15]研究发现,在 ER 阳性的乳腺癌中,细胞核受体共激活因子 3 (nuclear receptor co-activator 3, NCOA3) 作为 ER 信号通路中的共刺激因子可以同 PLAC1 的 P2 启动子结合进而促进 PLAC1 基因的转录,并且证明只有在 ER 阳性的乳腺癌标本中才有 NCOA3 过表达,从而促进 PLAC1 转录,进而在乳腺癌的细胞增殖中发挥重要作用。Chen 等^[7]研究表明,肝 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α) 和肝 X 受体 β (liver X receptor β , LXR β) 在乳腺癌细胞中作为转录因子同 PLAC1 的启动子作用后,调节 PLAC1 的转录,它们可以放大启动子的功能,是启动子的激活剂。Yuan 等^[16]的研究提示过氧化物酶体增殖物激活受体 δ (peroxisome proliferator-activated receptor δ , PPAR δ) 可以同 CEBP β 2/SP1 形成复合物结合于 PLAC1 的启动子序列处,进而调节 PLAC1 的转录。Chen 等^[17]则进一步将抑癌基因 TP53 (tumor protein 53)、视网膜瘤基因 (retinoblastoma gene, RB) 与 PLAC1 的表达结合起来研究,发现 TP53 可以直接与 PLAC1 的启动子 P1 结合,抑制启动子的激活,减少 PLAC1 基因的转录,而 RB 则是与核受体信号通路共同作用后,促进了 PLAC1 的表达。突变后的 TP53 基因丧失了抑制功能,从而促进了 PLAC1 的转录。但是突变后的 RB 基因对 PLAC1 启动子功能的影响不大,仍可活化 PLAC1 的启动子,促进下游 PLAC1 基因的转录。

2. PLAC1 的下游信号通路

Koslowski 等^[11]发现,阻断 PLAC1 表达后,乳腺癌细胞增殖能力降低,细胞生长停滞在 G₁/S 期,因为阻断 PLAC1 的表达,减少了丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT) 的磷酸化。磷酸化的 AKT 信号通路可以激活细胞周期蛋白 D 的表达,所以当 AKT 磷酸化水平降低时,细胞周期阻滞于 G₁/S 期 (图 1)。PLAC1 在调控乳腺癌细胞功能时主要涉及到 AKT 信号通路,与细胞周期蛋白 D 的表达量增多相关。最近一项有关 PLAC1 在肝癌细胞增殖转移中的机制研究,同样发现



注: E₂ 代表雌二醇, ER α 代表雌激素受体 α , E₂ 与 ER α 结合后激活 ER α 信号通路; NCOA3 代表细胞核受体共激活因子 3; CEBP β 2/SP1 代表 CCAAT-增强子结合蛋白 β 2/转录因子 SP1; PPAR δ 代表过氧化物酶体增殖物激活受体 δ ; LXR α 及 LXR β 代表肝 X 受体 α 及 β ; RB 代表成视网膜瘤细胞瘤基因; TP53 代表抑癌基因 TP53; EX 代表外显子序列; P 代表启动子; AKT 代表丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶; \uparrow 代表激活; \dashv 代表抑制

图 1 胎盘特异性基因 1 (PLAC1) 的结构^[6-7] 及其在乳腺癌中的作用机制^[7,14-17]

PLAC1 促进了 AKT 信号通路的活化,进而促进了肝癌细胞的转移^[18]。

3. PLAC1 作用机制研究新方向

在乳腺癌中, PLAC1 促进乳腺癌细胞的增殖、浸润和转移^[7,11]。同样有研究表明, PLAC1 在胃癌^[19]、肝癌^[18]、结直肠癌^[9]、子宫内膜癌^[10]等多种肿瘤细胞中特异性表达,都可促进肿瘤进展。研究者发现 PLAC1 在胎盘及多种肿瘤细胞中特异性表达,并且发现 PLAC1 在胎盘滋养层细胞植入子宫内膜的过程中发挥了关键作用^[20],因此假设 PLAC1 促进肿瘤的侵袭转移过程可能类似于胎盘植入子宫内膜的过程。同时,有研究者指出, PLAC1 在进化上具有高度保守性,并进一步描述了其功能在维持胎盘的正常发育及肿瘤的浸润转移中具有高度保守性^[21]。这些都提示 PLAC1 可能采用胚胎发育时期类似的分子机制,促进肿瘤的侵袭转移。结合“肿瘤胚胎性起源”的假说,以及 CEA 对胃肠道肿瘤诊断的临床意义,说明胚胎时期表达的基因在出生后出现的时间及空间的异常表达可能促进肿瘤的形成^[22]。因此,研究 PLAC1 促进乳腺癌转移的机制,可以借鉴其在胎盘植入子宫内膜过程中的作用机制,通过类比研究,可能有更多网状信号通路被发现。

三、PLAC1 与乳腺癌的免疫治疗

1. PLAC1 免疫治疗的新靶点

PLAC1 有独特的免疫原性。一方面 PLAC1 参与诱导体液免疫应答。研究者发现, 41% 非小细胞肺癌患者, 29% 胃癌患者, 3.8% 肝细胞癌患者和 30% 结肠癌患者血清中可

检测到相应的 PLAC1 抗体,但在大多数正常人血液中 PLAC1 抗体为阴性,偶尔在正常女性血液中检测到 PLAC1 抗体,这可能与妊娠后的自身免疫有关^[1]。Dong 等^[23]研究发现,表达 PLAC1 的肿瘤细胞可自发产生体液免疫,并进一步说明了 PLAC1 在制备多效价肿瘤疫苗中的作用。Koslowski 等^[11]在乳腺癌细胞系中用 PLAC1 特异性抗体中和细胞膜表面的 PLAC1 后,肿瘤细胞的增殖及迁移能力降低。另一方面,PLAC1 抗原表位可以诱导细胞免疫应答。Liu 等^[24]利用生物信息学的方法寻找 PLAC1 有关的肿瘤抗原表位,共找出 4 个潜在抗原表位,分别为 p28、p31 及其同构体形式 p28-1Y9V、p31-1Y2L,并进一步验证了 P28 抗原表位的稳定性,单独的 P28 可以诱导机体产生细胞毒性 T 细胞,并释放干扰素 γ 产生杀伤效应。P28 表位可以作为新型抗原肽进行肿瘤疫苗的研发,有助于表达 PLAC1 的乳腺癌的免疫治疗。Liu^[25]等对结直肠癌标本的研究发现了 PLAC1/CP1 p41~50 及 PLAC1/CP1 p69~77 这 2 个人类白细胞抗原 HLA-A * 02:01 限制性的 CD8⁺ 的抗原表位,并指出其在结直肠癌免疫治疗中研发肽段行肿瘤免疫治疗具有一定前景。同时,PLAC1 同乳腺癌细胞的免疫耐受也有关。Yuan 等^[26]通过对小鼠乳腺细胞系 E0771 的研究发现,PLAC1 的表达增加了机体对肿瘤的免疫耐受,PLAC1 通过增加趋化因子 CXCL1 [chemokine (C-X-C motif) ligand 1] 及程序死亡因子配体 1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 表达促进了髓样抑制细胞及调节性 T 细胞的活化,进而导致肿瘤免疫耐受,应用 PD-L1 抑制剂可以进一步减少肿瘤免疫耐受,为肿瘤免疫治疗中干预 PLAC1 的表达提供了理论基础。

2. 针对 PLAC1 免疫治疗的前景

乳腺癌现有的治疗中面临着众多问题,尤其对于三阴性乳腺癌及早发性乳腺癌,需要寻找新的治疗方案。有文献认为针对 CT 抗原的免疫治疗是三阴性乳腺治疗的新出路^[4]。针对黑色素瘤抗原基因 a 以及纽约食管鳞状上皮癌抗原 1 等 CT 抗原表位的肿瘤疫苗研发已进入临床试验阶段^[27]。免疫治疗为实体肿瘤的补充治疗手段,尤其对于传统治疗方案不理想的肿瘤类型而言,肿瘤的免疫治疗可能为患者提供新的治疗机会。免疫治疗的关键就是要寻找肿瘤特异性抗原或肿瘤相关抗原。PLAC1 在乳腺癌中特异性表达,在正常组织中基本不表达,可以作为肿瘤特异性抗原,并且 PLAC1 可以表达在乳腺癌细胞表面,胞外结构域中有抗原表位,这些特点为乳腺癌的免疫治疗提供了理论基础^[3]。现在针对乳腺肿瘤相关抗原的治疗方案中,已有靶向 HER-2 的单克隆抗体应用于临床,但 HER-2 在乳腺癌患者中的表达只有 20%~25%,而 PLAC1 在 80% 以上的乳腺癌患者中均可检测到^[11],那么针对 PLAC1 的免疫治疗将使更多的患者受益。针对 PLAC1 阳性表达的乳腺癌,肿瘤免疫治疗主要有 2 种可能的方案:(1) 被动免疫。直接输入 PLAC1 抗体,中和体内尤其是细胞膜表面的 PLAC1 抗原进而阻断 PLAC1 的功

能。(2) 主动免疫。将肿瘤抗原注入机体,诱导机体自身针对肿瘤的免疫反应,杀灭肿瘤细胞^[28]。在肿瘤免疫治疗中需要注意减少机体正常组织的不良反应。PLAC1 在正常组织中基本不表达,可减少对正常组织的损害,其作为肿瘤免疫治疗靶点的应用前景是明确的,而且部分乳腺癌的化疗药物是通过增强机体的免疫功能而发挥作用的,原有的治疗方案与免疫治疗方案结合,可为三阴性乳腺癌的治疗提供新的思路^[29]。当然,在乳腺癌的免疫治疗中也应关注抗原变异的问题,研发多效价的疫苗是理想的方案^[29]。

四、结语

在精准医疗时代,乳腺癌的诊断、治疗和预后评估等面临着新的挑战,治疗方案的优化及新的治疗靶点的探索都是亟待解决的问题。PLAC1 具有促进乳腺癌细胞增殖、浸润和转移的能力,在乳腺癌的发生、发展中发挥了重要功能。PLAC1 促进乳腺癌浸润转移的机制可能类似于其在胎盘植入子宫内膜过程中的机制,这为 PLAC1 转移机制的研究提供了新的思路^[20]。PLAC1 可以作为胃癌^[8,30]、结直肠癌^[31]、子宫内膜癌^[32]的预后评判指标,然而关于 PLAC1 的表达与乳腺癌预后的关系尚没有相关研究;PLAC1 在不同乳腺癌亚型中的表达及其判断预后的价值也需要进一步探讨。PLAC1 作为肿瘤特异性抗原,具有免疫原性,针对 PLAC1 的免疫治疗将为乳腺癌的治疗提供新的思路。

参 考 文 献

- [1] 闫光华,罗彬,肖绍文,等. 胎盘特异性基因 PLAC1 与肿瘤[J]. 生命的化学,2010,30(3):459-463.
- [2] 陈静,庞学雯,刘芳芳,等. 肿瘤/胎盘抗原基因 PLAC1/CP1 在胃癌中的表达及其诱导的体液免疫应答[J]. 北京大学学报(医学版),2006,38(2):124-127.
- [3] Silva WA Jr, Gnjatich S, Ritter E, et al. PLAC1, a trophoblast-specific cell surface protein, is expressed in a range of human tumors and elicits spontaneous antibody responses[J]. Cancer Immun, 2007,7:18.
- [4] Li Y, Li J, Wang Y, et al. Roles of cancer/testis antigens (CTAs) in breast cancer [J]. Cancer Lett, 2017,399:64-73.
- [5] Gu G, Dustin D, Fuqua SA. Targeted therapy for breast cancer and molecular mechanisms of resistance to treatment [J]. Curr Opin Pharmacol, 2016,31:97-103.
- [6] Cocchia M, Huber R, Pantano S, et al. PLAC1, an Xq26 gene with placenta-specific expression [J]. Genomics, 2000,68(3):305-312.
- [7] Chen Y, Moradin A, Schlessinger D, et al. RXRa and LXR activate two promoters in placenta- and tumor-specific expression of PLAC1 [J]. Placenta, 2011,32(11):877-884.
- [8] Liu F, Shen D, Kang X, et al. New tumour antigen PLAC1/CP1, a potentially useful prognostic marker and immunotherapy target for gastric adenocarcinoma[J]. J Clin Pathol, 2015,68(11):913-916.
- [9] 赵瑞,李世拥,安萍,等. PLAC1 在结直肠癌及其肝转移组织中的表达及临床意义[J/CD]. 中华普外科手术学杂志(电子版),2012,6(3):281-285.

- [10] Devor EJ, Leslie KK. The oncoplacental gene placenta-specific protein 1 is highly expressed in endometrial tumors and cell lines [J]. *Obstet Gynecol Int*, 2013, 2013; 807849.
- [11] Koslowski M, Sahin U, Mitnacht-Kraus R, et al. A placenta-specific gene ectopically activated in many human cancers is essentially involved in malignant cell processes [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(19): 9528-9534.
- [12] Fant M, Barerra-Saldana H, Dubinsky W, et al. The PLAC1 protein localizes to membranous compartments in the apical region of the syncytiotrophoblast [J]. *Mol Reprod Dev*, 2007, 74(7): 922-929.
- [13] Ghods R, Ghahremani MH, Darzi M, et al. Immunohistochemical characterization of novel murine monoclonal antibodies against human placenta-specific 1 [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2014, 61(3): 363-369.
- [14] Koslowski M, Tureci O, Biesterfeld S, et al. Selective activation of trophoblast-specific PLAC1 in breast cancer by CCAAT/enhancer-binding protein beta (C/EBPbeta) isoform 2 [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(42): 28 607-28 615.
- [15] Wagner M, Koslowski M, Paret C, et al. NCOA3 is a selective co-activator of estrogen receptor α -mediated transactivation of PLAC1 in MCF-7 breast cancer cells [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 570.
- [16] Yuan H, Lu J, Xiao J, et al. PPAR δ induces estrogen receptor-positive mammary neoplasia through an inflammatory and metabolic phenotype linked to mTOR activation [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(14): 4349-4361.
- [17] Chen Y, Schlessinger D, Nagaraja R. T antigen transformation reveals Tp53/RB-dependent route to PLAC1 transcription activation in primary fibroblasts [J]. *Oncogenesis*, 2013, 2(9): e67.
- [18] Wu Y, Lin X, Di X, et al. Oncogenic function of Plac1 on the proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(1): 465-473.
- [19] 范宜娟, 杜光桦, 杨滢瑜, 等. 原发性胃腺癌中 PLAC1/CPI 的表达及临床意义 [J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(5): 0770-0774.
- [20] Chang WL, Yang Q, Zhang H, et al. Role of placenta-specific protein 1 in trophoblast invasion and migration [J]. *Reproduction*, 2014, 148(4): 343-352.
- [21] Devor EJ. Placenta-specific protein 1 is conserved throughout the Placentalia under purifying selection [J]. *Sci World J*, 2014, 2014: 537 356.
- [22] Old LJ. Cancer is a somatic cell pregnancy [J]. *Cancer Immun*, 2007, 7: 19.
- [23] Dong XY, Peng JR, Ye YJ, et al. Plac1 is a tumor-specific antigen capable of eliciting spontaneous antibody responses in human cancer patients [J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(9): 2038-2043.
- [24] Liu W, Zhai M, Wu Z, et al. Identification of a novel HLA-A2-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope from cancer-testis antigen PLAC1 in breast cancer [J]. *Amino Acids*, 2012, 42(6): 2257-2265.
- [25] Liu F, Zhang H, Shen D, et al. Identification of two new HLA-A * 0201-restricted cytotoxic T lymphocyte epitopes from colorectal carcinoma-associated antigen PLAC1/CPI [J]. *J Gastroenterol*, 2014, 49(3): 419-426.
- [26] Yuan HY, Glazer R, Wang XY, et al. Placental protein-1 (plac1) modulates immune tolerance in mammary tumor cells [J]. *J Immunother Cancer*, 2015, 3 Suppl 2: 221.
- [27] Stagg J, Allard B. Immunotherapeutic approaches in triple negative breast cancer; latest research and clinical prospects [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2013, 5(3): 169-181.
- [28] 张欢, 吴斌. 乳腺癌免疫治疗的研究进展 [J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2015, 9(4): 264-269.
- [29] Hendrickx W, Al-Muftah M, Decock J, et al. Cancer testis antigen expression in triple negative breast cancer; Candidate targets for cancer immunotherapy? [J]. *J Immunother Cancer*, 2015, 3 Suppl 2: 381.
- [30] Liu FF, Dong XY, Pang XW, et al. The specific immune response to tumor antigen CPI and its correlation with improved survival in colon cancer patients [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(4): 998-1006.
- [31] Lee CL, Huang CJ, Yang SH, et al. Discovery of genes from feces correlated with colorectal cancer progression [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 3378-3384.
- [32] Devor EJ, Santillan DA, Santillan MK, et al. Placenta-specific protein 1 (PLAC1): An ancient and crucial element in placental health and development and a potential therapeutic target in uterine and ovarian cancers [J]. *Am J Phy Anthropol*, 2015, 156: 120.

(收稿日期: 2016-11-28)

刘东洋, 陈凤. 胎盘特异性基因 1 与乳腺癌 [J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2018, 12(5): 315-318.