·特约专论·

雌激素调控三阴乳腺癌生物学行为及其信号机制的研究进展*

王旭东
(贵州医科大学 基础医学院 生理学教研室,贵州 贵阳 550025)

[摘 要] 乳腺癌是女性最常见恶性肿瘤,按雌激素受体(ER)表达情况,可将乳腺癌大致可分为 ER 阳性和 ER 阴性两类,三阴性乳腺癌(TNBC)是 ER 阴性乳腺癌,不表达 ER、孕激素受体(PR)或 Her-2 受体。TNBC 侵袭性和转移性较强,临床预后较差,缺乏特异性治疗靶点,需要一种有效的治疗方法。研究显示,雌激素不仅可调控 ER 阳性乳腺癌的生物学行为,同时还对 TNBC 生物学行为如细胞增殖、迁移和侵袭等产生影响,而发挥介导作用的重要受体就是 G 蛋白偶联雌激素新受体(GPER)。本文主要就近年来雌激素对 TNBC 生物学行为的影响及其信号机制研究进展进行综述。

[关键词] G 蛋白偶联雌激素受体; 雌激素; 三阴乳腺癌; 生物学行为; 信号通路
[中图分类号] R739.9; R34 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2018)06-0621-04
DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.06.001

雌激素是促进乳腺癌发生发展的重要因素之一。根据雌激素受体(ER)的表达,可将乳腺癌分为(ER)阳性和 ER 阴性 2 类。三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer,TNBC)是 ER 阴性乳腺癌,不表达 ER、孕激素受体(PR)或 Her-2 受体,但可表达雌激素新受体。TNBC 侵袭性和转移性较强,临床预后较差,缺乏特异性治疗靶点,亟需一种有效的治疗方法。因此,深入探讨雌激素对 TNBC 恶性演进的影响及其信号机制,可为探寻治疗 TNBC 的有效方法提供理论依据。本文主要就近年来该方面的研究进展进行综述。

1 G 蛋白偶联雌激素受体的发现及其与乳腺癌的关系

1997 年斯坦福大学的 Carmeci 等利用差异 cDNA 文库筛选技术,从雌激素受体(estrogen receptor,ER)阳性乳腺癌细胞 MCF-7 中分离到一个 cDNA 克隆,该克隆序列与 G-蛋白偶联受体(G Protein-Coupled Receptors, GPCRs)具有显著同源性, 在 ER 阳性乳腺癌细胞(MCF7、T-47 D 等)大量表达,但当时并未检测到 BT-20、MDA-MB-231 等 ER 阴性乳腺癌细胞表达 GPCR。该雌激素新受体被称为 G 蛋白雌激素偶联受体(G protein coupled estrogen receptor, GPR30/ GPER),其立体结构中有 7 个跨膜 α 螺旋,具有鸟苷酸结合蛋白的结合位点。一般认为 ER 为基因转录因子, 主要介导雌激素的核内效应,而 GPER 主要介导雌激素的非基因组快速效应[1]。有研究显示,雌激素诱导 ERK-1/-2 快速激活与经典 ER 信号通路无关但需要 GPER 的表达。雌激素不仅在表达 ERα、ERβ 和 GPER 的 MCF-7 细胞激活 ERK-1/-2,ER 阴性/GPER 阳性的 SKBR-3 细胞对雌激素同样敏感,但 MDA-MB-231 细胞敏感性较差,其原因就是该细胞 GPR30 表达水平较低。若细胞过表达 GPER 则可使 MDA- MB-231 恢复对雌激素刺激的敏感性,成为雌激素应答表型。有研究显示,GPER 除了参与介导雌激素的非基因组效应外,还可能参与雌激素的基因组效应有关。Catalano 等[2]在研究雌激素拮抗剂他莫昔芬(TAM)耐受乳腺癌生长机制时发现,TAM 可以通过 GPER 诱导芳香酶(aromatase)以促进雌激素合成从而刺激乳腺癌细胞生长。本研究结果显示,用雌激素刺激雌激素受体(Estrogen receptor, ER) 阳性乳腺癌细胞如 MCF-7,可以诱

*[基金项目]国家自然科学基金项目资助(31360252、31660345)
网络出版时间:2018 - 06 - 18 网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20180618.1502.024.html

导乳腺癌的重要预后生物学标记物周期蛋白E小片段的产生，然而ER选择性调节剂（Tamoxifen，TAM）并不能阻断雌激素的上述效应，而且还可单独刺激周期蛋白E的产生，诱导与雌激素刺激相似的细胞效应[3]，这是由于TAM不仅可拮抗ER，同时也是GPER的激动剂。这些研究结果提示，GPER在雌激素信号通路中的重要代偿性作用，也可部分解释TAM耐受细胞在ER信号通路受到干预后，可能继续对雌激素产生反应。因此，乳腺癌内分泌疗法的传统思路受到挑战，也就是说，欲阻断雌激素信号活动，还必须考虑雌激素的GPER信号通路。

2 GPER在细胞内分布特点及其生物学意义

按肿瘤细胞ER表达的情况，可将乳腺癌大致可分为ER阳性和ER阴性两类。ER阳性乳腺癌大约占乳腺癌的70%左右，这类乳腺癌对雌激素拮抗治疗反应良好，但随着时间推移多出现药物耐受现象。三阴性乳腺癌（TNBC）是ER阴性乳腺癌，不表达ER、孕激素受体（PR）或Her-2受体。TNBC的侵袭性和转移性较强，临床预后较差，缺乏特异性治疗靶点，临床上亟需找到一种有效的治疗方法。研究显示，雌激素不仅可调ER阳性乳腺癌的生物学行为，同时还对TNBC生物学行为如细胞增殖、迁移和侵袭等产生影响，而发挥介导作用的受体主要是G蛋白偶联雌激素新受体（GPER）。TNBC不表达ER但存在GPER不同水平表达，因此GPER在介导雌激素对TNBC生物学行为中的介导作用，日益受到相关学者的关注，并在近年来引发关于GPER生物学作用及其机制的研究热潮。ER属于经典的细胞核受体，介导雌激素的基因组效应，促进靶细胞分裂增殖，这是雌激素最重要的生物学作用之一，尽管近年来也发现ER存在于细胞膜参与介导非基因组效应。一般认为，与经典ER细胞分布不同，GPER分布于细胞膜及内质网上，主要介导雌激素的快速非基因组效应，但有资料显示GPER还参与介导雌激素的基因组效应[2-3]，提示GPER可能在刺激因素作用下可能向细胞核内转位，而这一推测得到了实验的证明。乳腺癌免疫组织化学分析显示，正常对照乳腺组织GPER多为阳性，但乳腺肿瘤组织GPER表达差异却很大，GPER在侵袭性乳腺癌中阳性表达率较高并与肿瘤大小呈正相关。进一步研究显示，乳腺癌组织可以胞浆GPER表达为主，或以细胞核表达为主，但胞浆和胞核也可同时表达[4]。共聚焦显微镜观察也证实，乳腺癌细胞T47D和MCF-7也存在胞浆和核GPER的表达；进一步结合临床信息分析，发现胞浆GPER表达与非导管性组织学亚型、低肿瘤分期及高分化等密切相关，而细胞核GPER表达则与肿瘤低分化显著相关[4]。乳腺癌组织中存在GPER胞浆型和/或核型两种不同免疫组织化学类型，并表现出不同的生物学特征。如此看来，在相关因素的刺激下GPER受体可发生亚细胞分布变化，而向细胞核内转位可能与GPER调控乳腺癌生物学行为有关。目前在这方面的认识还十分有限，有待深入研究阐明。

3 GPER与TNBC细胞迁移和侵袭的关系

恶性肿瘤演进与肿瘤细胞的迁移和侵袭能力有关。雌激素可增强乳腺癌细胞的迁移和侵袭能力而促进肿瘤恶性演进，其受体机制一般认为与ER有关，GPER胞内分布和信号途径与ER存在差异、ER阴性的TNBC细胞不同水平表达GPER，因而对GPER在TNBC生物学行为的影响及其信号机制进行深入研究具有重要理论和实际意义，然而，关于GPER是否参与促进TNBC细胞迁移和侵袭，目前尚无定论。离体研究显示，采用GPER特异性激动剂G1活化GPER或抗IL-6抗体处理可明显抑制TNBC细胞的迁移活动，而重组IL-6可明显逆转G-1的抑制作用，提示IL-6参与介导GPER促进TNBC细胞侵袭，其机制可能与GPER降低NF-κb磷酸化、核定位、转录活性及抑制其与IL-6启动子结合从而抑制NF-κB/IL-6信号活动有关[5]。还有文献报道，采用高表达GPER的TNBC细胞作为研究模型，发现GPER激动剂G1或他莫昔芬通过激活GPER-ERK通路上调周期蛋白A/D、Bcl-2和c-fos而促进细胞迁移和侵袭[6]。另一方面，临床资料则显示，GPER表达水平与淋巴结转移、肿瘤发展阶段和纤维连接蛋白（fibronectin，FN）表达呈负相关，但与TNBC患者预后呈正相关[7]。GPER抑制上皮-间充质转换（epithelial to mesenchymal transition，EMT）从而抑制TNBC细胞体外迁移和侵袭，其机制可能与GPER活动降低NF-κB磷酸化、核定位和转录活性有关；GPER可

通过干预 EMT 从而抑制 TNBC 在裸鼠体内的生长和侵袭能力[7]。总之,目前关于 GPER 影响 TNBC 迁移和侵袭及其机制的文献报道较少、尚有待深入研究。

4　GPER 与 TNBC 细胞增殖的关系

细胞生长速度是影响肿瘤进展的另一重要因素。在 ER 阳性乳腺癌,雌激素是促进细胞增殖的重要刺激因素,而该效应主要通过 ER 介导。然而,在 ER 阴性乳腺癌尤其是 TNBC,肿瘤细胞生长是否依然存在对雌激素的反应性? 从现有文献来看,多数学者认为 GPER 参与介导 TNBC 对雌激素促生长刺激的反应性。Girgert 等[8]以雌激素刺激 TNBC 细胞 HCC 1806、HCC70 和 MDA-MB-231,发现其促细胞增殖效应与 GPER 表达的水平正相关,而雌三醇(Estriol, E3)可明显抑制 TNBC 细胞生长,效应与雌激素截然相反;雌激素促进 TNBC 细胞增殖的机制与其增强表皮生长因子受体(Epithelial growth factor receptor, EGFR)转活有关,E3 则通过抑制 EGFR 的反式激活而抑制细胞增殖[8]。这些资料显示,雌激素的非 ER 效应可通过 GPER/EGFR 通路介导。临床免疫组化观察显示,GPER 和 p-ERK 1/2 阳性表达与肿瘤大小、临床进展期正相关[7],而 ERK 为 EGFR 下游信号通路。TNBC 常常过度表达 EGFR,从而增强 GPER-EGFR-ERK 信号通路活动,提高 TNCBC 对雌激素促癌作用的敏感性。

最新还发现,雄激素受体(androgen receptor, AR)可通过直接结合 GPER 启动子抑制 GPER 活化,从而促进 TNBC 细胞增殖,这可解释为何 AR 表达水平与 TNBC 恶性演进呈正相关[9]。另有研究显示,雌激素可促进 HCC 70 乳腺癌细胞生长,采用 Gefitinib 处理可抑制 EGFR 活化并降低 GPER 表达、或 GPER 基因沉默,均可明显抑制 TNBC 细胞生长,其机制可能与阻断 Src/c-fos 信号活动有关[10-11],总之,多数学者认同 GPER 促细胞增殖效应的观点[13-14];然而,也有个别研究显示 GPER 对 TNBC 细胞生长具有相反作用[15]。此外,病理组织免疫组化表明,钙蛋白酶 2 在 TNBC 组织表达较为丰富。本研究组报道,乳腺癌细胞钙蛋白酶(calpain)是 GPER 下游的重要信号分子,雌激素可通过 GPER-钙蛋白酶信号轴活动促进乳腺癌细胞与基质胶黏附[12]。还有报道显示,雌激素还可通过 GPER 介导细胞-基质黏附分子 integrinβ4 的蛋白剪切[16]。此外,本研究还发现,从唇形科植物高黄芩中提取的黄芩素(Baicalein)可选择性抑制 GPER,从而阻断乳腺癌细胞恶性行为如细胞迁移、黏附及侵袭[17]。这些资料提示,GPER-钙蛋白酶信号在雌激素调控 TNBC 生物学行为中的重要作用,因此深入研究低毒性的植物有效提取成分干预 TNBC 雌激素信号通路具有重要的实际意义。

5　雌激素 – 钙蛋白酶信号通路与乳腺癌生物学行为

钙蛋白酶为一种钙离子依赖性细胞内半胱氨酸蛋白酶。目前已发现 14 种 CANP 同工酶,其中 μ-CANP 和 m-CANP 在组织中广泛表达。CANP 是由不同的 80KD 催化亚基(分别由 CAPN1 和 CAPN2 基因编码)和相同的 30KD 调节亚基(由 CAPNS1 基因编码)组成的异二聚体蛋白酶。CANP 通过有限蛋白水解(多在 N 端)底物蛋白,对蛋白产生翻译后修饰作用从而调节底物蛋白的活性或稳定性。早期的研究表明,乳腺癌细胞和组织中钙蛋白酶活性明显高于正常对照[18]。近年来,钙蛋白酶作为乳腺癌治疗的潜在靶点日益受到重视[19]。本课题组报道,雌激素可通过钙蛋白酶调控乳腺癌细胞的失巢调亡、细胞存活力及迁移活动[20-22],同时发现,雌激素可通过钙蛋白酶促进周期蛋白 E 蛋白表达和小分子片段的生成,这可能是雌激素促癌效应的重要机制之一[23],该效应可通过乳腺癌细胞 GPER 介导[3]。钙蛋白酶还在雌激素诱导乳腺癌上皮细胞转化过程中被激活[24],同时与乳腺癌细胞对阿霉素产生耐受有关[25]。这些资料显示,雌激素可通过激活胞内钙蛋白酶对乳腺癌生物学行为产生广泛影响,而钙蛋白酶活性增高可能增加乳腺癌细胞对雌激素刺激的敏感性。TNBC 组织中钙蛋白酶 2 表达上调[26],这可能与高表达 GPER 的 TNBC 细胞对雌激素产生反应的重要原因[27]。然而,目前对 TNBC 雌激素信号通路了解还十分有限,有待深入研究。

6　展望

总之,现有研究表明,GPER 参与介导 TNBC 细胞和组织对雌激素的反应性,主要表现在 GPER 的促生长效应,其信号通路涉及 EGFR-ERK 及钙

蛋白酶系统。关于雌激素调控 TNBC 生物学行为的研究,目前仍以离体研究为多而整体研究较少,因而对雌激素影响 TNBC 生物学行为及其信号机制的认识还十分有限,需要深入研究探明。在 TNBC 雌激素信号通路中寻找关键靶点并进行干预,以阻断或抑制 TNBC 的生长、侵袭和转移,可为临床探寻针对 TNBC 的有效靶向治疗提供理论依据。

7 参考文献

[1] PUPO M, MAGGIOLINI M, MUSTI A M. GPER mediates non-genomic effects of estrogen methods [J]. Mol Biol, 2016,1366(5):13471 – 13488.

[2] CATALANO S, GIORDANO C, PANAZA S, et al. Tamoxifen through GPER upregulates aromatase expression: a novel mechanism sustaining tamoxifen-resistant breast cancer cell growth [J]. Breast Cancer Res Treat, 2014, 146 (2):273 – 285.

[3] LI Y, CHEN Y, ZHU Z X, et al. 4-Hydroxytamoxifen-stimulated processing of cyclin E is mediated via G protein-coupled receptor 30 (GPR30) and accompanied by enhanced migration in MCF-7 breast cancer cells [J]. Toxicology, 2013,309(1):61 – 65.

[4] SAMARTZIS E P, NOSKE A, MEISEL A, et al. The G protein-coupled estrogen receptor (GPER) is expressed in two different subcellular localizations reflecting distinct tumor properties in breast cancer. PLoS One [J], 2014, 9(1):e83296.

[5] LIANG S, CHEN Z, JIANG G, et al. Activation of GPER suppresses migration and angiogenesis of triple negative breast cancer via inhibition of NF-κB/IL-6 signals [J]. Cancer Lett, 2017,34(1):12 – 23.

[6] YU T, LIU M, LUO H, et al. GPER mediates enhanced cell viability and motility via non- genomic signaling induced by 17β-estradiol in triple-negative breast cancer cells [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2014,143(4): 392 – 403.

[7] CHEN Z J, WEI W, JIANG G M, et al. Activation of GPER suppresses epithelial mesenchymal transition of triple negative breast cancer cells via NF-κB signals [J]. Mol Oncol, 2016,10(6):775 – 788.

[8] GIGERT R, SMON G. Inhibition of GPR30 by estriol prevents growth stimulation of triple-negative breast cancer cells by 17β-estradiol [J]. BMC Cancer, 2014,134(8) :914 – 935.

[9] SHEN Y, YANG F, ZHANG W, et al. The androgen receptor promotes cellular proliferation by suppression of G-protein coupled estrogen receptor signaling in triple-negative breast cancer [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43 (5):2047 – 2061.

[10] GIRGERT R, EMONS G. 17β-estradiol-induced growth of triple-negative breast cancer cells is prevented by the reduction of GPER expression after treatment with gefitinib [J]. Oncol Rep, 2017, 37(2):1212 – 1218.

[11] GIRGERT R, EMONS G, GRUNDKER C. Inactivation of GPR30 reduces growth of triple-negative breast cancer cells: possible application in targeted therapy [J]. Breast Cancer Res Treat, 2012,134 (1):199 – 205.

[12] CHEN Y, LI Z, HE Y, et al. Estrogen and pure antiestrogen fulvestrant (ICI 182 780) augment cell-matrigel adhesion of MCF-7 breast cancer cells through a novel G protein coupled estrogen receptor (GPR30)-to-calpain signaling axis [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2014,275 (2):176 – 181.

[13] WANG Y, PENG Z, MENG R, et al. NHERF1 inhibits proliferation of triple-negative breast cancer cells by suppressing GPER signaling[J]. Oncol Rep, 2017, 38(1): 221 – 228.

[14] WEIBENBORN C, IGNATOV T, OCHEL H J, et al. GPER functions as a tumor suppressor in triple-negative breast cancer cells [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140 (5): 713 – 723.

[15] AIELLO F, CARULLO G, GIARDANO F, et al. Identification of breast cancer inhibitors specific for G protein-coupled estrogen receptor(GPER)-expressing cells [J]. Chem Med Chem, 2017, 12(16): 1279 – 1285.

[16] 陈腾祥,严莉莎,霍建云,等. 雌二醇对三阴乳腺癌细胞 integrin β4 水解作用的影响[J]. 贵阳医学院学报, 2015,40(1):10 – 12.

[17] SHANG D, LI Z, ZHU Z,et al. Baicalein suppresses 17-β-estradiol-induced migration, adhesion and invasion of breast cancer cells via the G protein-coupled receptor 30 signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2015, 33(4):2077 – 2085.

[18] WANG X D, ROSALES J L, MAGLIOCCO A, et al. Cyclin E in breast tumors is cleaved into its low molecular weight forms by calpain[J]. Oncogene, 2003,22(5): 769 – 774.

[19] MATAGAT M A, ROSENTHAL S, HEERBOTH S, et al. Anti-breast cancer effects of histone deacetylase inhibitors and calpain inhibitor[J]. Anticancer Res, 2012,32 (7):2523 – 2529.

[20] 何 艳, 王丹丹, 陈华妹, 等. 雌激素通过 ERK-FAK 信号通路调节 MCF-7 乳腺癌细胞失巢凋亡[J]. 基础医学与临床, 2015,35(9):1194 – 1198.

(下转第 629 页)