

乳腺癌细胞迁移的调节与转移

陈晓慧 冯玉梅*

(天津医科大学附属肿瘤医院 / 肿瘤研究所生物化学与分子生物学室,
乳腺癌防治研究教育部重点实验室, 天津 300060)

摘要 细胞迁移是乳腺癌侵袭和转移中的关键步骤之一。癌细胞在迁移过程中主要受到Rho GTPases的调节,发生肌动蛋白骨架重组,获得定向迁移的能力;高迁移能力的癌细胞通过与胞外基质成分相互作用,为迁移创造合适的微环境;最后迁移的癌细胞在靶器官的趋化作用下在特定部位驻足生长,这些环节共同作用导致乳腺癌转移。研究细胞迁移复杂的分子机制将为控制乳腺癌转移提供新的策略。

关键词 细胞迁移; 转移; 乳腺癌

转移是导致乳腺癌患者死亡的最主要原因。转移是一个极其复杂的生物学过程,其中癌细胞的迁移是乳腺癌转移的重要步骤。当受到外界信号刺激,细胞间黏附能力降低,癌细胞获得迁移表型,从原发部位脱离,同时在细胞外基质蛋白酶的作用下降解基底膜,进入血管或淋巴管中游走,抵达特定靶器官形成远端转移灶。在这个过程中,癌细胞经历头部伪足伸出、新的黏附建立以及细胞体尾部收缩的交替过程,并受到多重因素的调节。本文将从乳腺癌细胞的自身调节、细胞外微环境及靶器官的趋化作用对乳腺癌细胞迁移的影响作一综述。

1 癌细胞迁移的自身调节

乳腺癌转移中侵袭性的癌细胞具有较强的移动能力,表现为伪足伸出、化学趋化性和定向迁移,Rho GTPases调节的细胞骨架重组是其最重要的机制之一。

1.1 细胞骨架重组

细胞骨架是细胞运动的结构基础,它通过自身结构的动态组建,实现细胞迁移。细胞骨架由微丝、微管和中间纤维构成,肌动蛋白是微丝的主要成份。肌动蛋白骨架的重组被认为在乳腺癌细胞迁移中发挥中心作用^[1,2]。肌动蛋白受其相关蛋白复合物(actin-related protein, Arp2/3)调控,经历可逆性分解、多聚化、交联及再装配等一系列活动,在细胞前缘由密集的肌动蛋白网形成特征性的伪足结构使细胞膜突出,以此产生细胞前进的动力。而位于细胞体尾部的丝状肌动蛋白可以组成应力纤维,负责细胞的

收缩,同时应力纤维两端形成的黏着斑(focal adhesions or adhesion plaque)使细胞骨架与细胞外基质附着,为细胞迁移提供锚定力。

1.2 细胞极性的建立和定向迁移

在细胞外信号刺激下细胞骨架成份不均衡地分布于细胞的两端产生首尾极性,并向着趋化物梯度方向作定向迁移,这是癌细胞侵袭和转移的最显著特点。趋化物包括表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor/scatter factor, HGF/SF)、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等,它们通过与细胞表面相应受体结合引发细胞内级联反应。磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositide 3-kinase, PI3K)在趋化物作用下被激活,它可以放大细胞信号的不对称性,使细胞建立极性^[3]。活化的PI3K使磷脂酰肌醇3,4,5三磷酸盐(phosphatidylinositol 3,4,5 triphosphate, PIP3)积聚,刺激Rho GTPases作用于细胞骨架,引导细胞前缘形成。

1.3 相关的基因调控和表达

1.3.1 Rho GTPases Rho GTPases是小G蛋白Ras超家族成员,是肌动蛋白细胞骨架重组的重要调节者^[4],并作为分子开关控制细胞信号转导,与下游的效应器共同作用参与细胞迁移的全过程。Rho、Rac和Cdc42是Rho GTPases家族中研究最多的亚

收稿日期: 2007-07-27 接受日期: 2007-09-12

国家自然科学基金(No.30471671)和天津市应用基础研究计划(No.06YFJMJC12900)资助项目

* 通讯作者。Tel: 022-23520860, E-mail: ymfeng@tjmu.edu.cn

族。Chan 等^[9]利用 RNA 干扰技术证实 Rac1 缺失严重抑制片状伪足形成和细胞迁移, 最终抑制乳腺癌细胞 BT549 的侵袭。Rac 和 Cdc42 通过与胰岛素受体底物 p53 (insulin receptor substrate p53) 和 WAVE (WASP family verprolin-homologous proteins) 相互作用激活 Arp2/3 复合物促进肌动蛋白聚合, 从而诱导细胞头部伪足的形成和延伸; Cdc42 还可通过结肠腺瘤性息肉病蛋白 (adenomatous polyposis coli, APC) 和作用与 Par6-PKC ζ 下游的糖原合成酶激酶 (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 调节细胞极性和细胞迁移方向^[6,7]。Rho 主要作用于 ROCK (Rho associated kinase) 和 mDia1 (mammalian homologue of the *Drosophila* gene Diaphanous 1) 两个效应器, Rho 可以使 ROCK 多个氨基酸位点磷酸化而将其激活, 增加肌球蛋白交联, 使细胞体尾部收缩; 活化的 mDia 还可以促进应力纤维形成, 同时增加 Cdc42 的激活以及黏着斑上肌动蛋白依赖性的 c-Src 的募集^[8]。Src 信号途径以及钙蛋白酶的降解均能诱导黏着斑解离, 助于细胞尾部的收缩, 使细胞前移。所以 Rho、Rac 和 Cdc42 这三种蛋白质以各自的方式调节细胞骨架的重组, 促进乳腺癌细胞迁移。

1.3.2 WAVE WAVE 是 Arp2/3 复合物中 Wiskott-Aldrich 综合征蛋白 (Wiskott-Aldrich syndrome protein, WASP) 家族成员, 是一种肌动蛋白调节蛋白, 作为 Rho GTPases 下游的效应器参与细胞的信号转导, 负责将信号从酪氨酸激酶受体和 Rac 传递至细胞骨架, 通过介导细胞前缘膜的延伸调节癌细胞的迁移。对转移性乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 的研究表明, WAVE3 通过基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 和 p38 MAPK 途径促进细胞迁移和侵袭^[9,10]。WAVE3 还可与 PI3K 调节亚单位 p85 结合介导 PDGF 引起的伪足形成和细胞迁移^[11]。

1.3.3 切丝蛋白 切丝蛋白 (cofilin) 与 Arp2/3 复合物一样被认为是细胞迁移相关因子的终末效应器, 在细胞迁移中调节肌动蛋白的聚合和解聚。当细胞受到趋化物 EGF 刺激之初, 切丝蛋白被磷脂酶 C 激活, 与 Arp2/3 复合物共同作用使肌动蛋白在细胞前缘聚集, 引起伪足伸出, 所以切丝蛋白是决定癌细胞迁移能力的一个关键因子^[12], 之后的细胞运动由 PI3K 途径介导。LIMK1 (LIM domain kinase 1)^[13] 是一类丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶成员, 切丝蛋白是其唯一已知的底物, LIMK1 可以使切丝蛋白磷酸化而失活, 对抗切丝蛋白诱导的肌动蛋白解聚, 从而调节切丝蛋白依

赖性的乳腺癌细胞迁移。

1.3.4 埃兹蛋白 埃兹蛋白是 ERM (ezrin-radixin-moesin, 埃兹蛋白-根蛋白-膜突蛋白) 家族成员, 是细胞质膜与细胞骨架重要的交联剂。ERM 成员大多位于细胞质膜突出和伸展部位, 并常在这些部位联合表达, 因此, ERM 家族在维持细胞形态、细胞运动、信息传递等方面起着重要作用。Elliott 等^[14] 在裸鼠体内移植高表达野生型埃兹蛋白的乳腺癌细胞, 很快发生了肺转移; 而移植高表达突变型埃兹蛋白的乳腺癌细胞, 其肺转移受到抑制, 体外实验也观察到过表达突变型埃兹蛋白的乳腺癌细胞, 其运动和侵袭能力均降低。同时他们的研究表明埃兹蛋白促进乳腺癌细胞的迁移是通过作用于其效应器 c-Src 和 PI3K/丝(苏)氨酸激酶 (AKT) 实现的。

2 细胞外环境对迁移的诱导

乳腺癌细胞的有效迁移离不开细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的局部装配, 及基质成分对它的诱导。其中肿瘤相关巨噬细胞及赖氨酸氧化酶 (lysyl oxidase, LOX) 在特定环境中对乳腺癌细胞迁移能力的调节倍受关注。

2.1 ECM

ECM 由胶原蛋白、蛋白多糖和糖蛋白三种大分子组成结缔组织三维网状结构, 是细胞迁移的主要介质。细胞前缘伪足伸出后, 必须锚定于 ECM 才能使细胞进一步的前行, 这主要是通过整联蛋白在 ECM 中的配体如纤连蛋白、层黏连蛋白及胶原等形成的局部黏附或灶性接触来实现的。当这些黏附被破坏时, 伪足便收缩成为边缘波动, 细胞迁移也因此显著受阻^[15]。在局部 ECM 的装配中, MMPs 降解 ECM, 透明质酸作用于胶原纤维的聚合过程, 形成多孔性疏松的基质, 在细胞周围形成有利于细胞迁移的局部微环境。

2.2 巨噬细胞

近年来研究发现分布于乳腺原发癌的肿瘤相关巨噬细胞在增强乳腺癌细胞的转移中起重要作用。体外侵袭实验不仅观察到乳腺癌细胞向着趋化物刺激方向移动, 而且巨噬细胞也随之共同迁移^[16,17]。其机制是由于癌细胞分泌集落刺激因子 (colony stimulating factor 1, CSF-1), 表达 EGF 受体, 而巨噬细胞能够分泌 EGF, 表达 CSF-1 受体, 二者相互促进, 巨噬细胞就是通过这种旁分泌环对乳腺癌细胞的迁移和侵袭起到促进作用。另外, 巨噬细胞可以通过它的

特殊结构伪足小体介导 ECM 蛋白酶水解, 释放化学趋化物, 刺激乳腺癌细胞的定向迁移。

2.3 LOX

肿瘤快速生长过程中, 必然造成局部组织的缺氧, 缺氧环境下, 肿瘤细胞的侵袭能力大大增强。LOX 是一个在细胞外基质中催化弹力蛋白与胶原纤维连接的胺氧化酶, 最新研究表明其在低氧环境中被诱导对肿瘤转移发挥作用。在浸润性乳腺癌中能够检测到 LOX 的表达上调, 用其抑制剂 β -氨基丙腈处理细胞, 可以观察到细胞迁移减少, 同时检测到被活化的黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)和 Src 激酶降低。过氧化氢是 LOX 激活过程中的伴随产物, 若将其酶解, 会导致剂量依赖性的 Src 活性丢失, 所以活性的 LOX 可以通过过氧化氢介导的 FAK/Src 信号途径促进乳腺癌细胞的迁移和细胞对基质的黏附^[18]。另外, Polgar 等^[19]研究表明 LOX 与胎盘催乳素的共表达可以使正常乳腺细胞 MCF-10A 的迁移明显增加, 而单独作用时并不增加其迁移率, 提示它们二者的协同作用在正常上皮细胞向具有迁移表型的恶性细胞转化过程中起到重要作用。

3 靶器官对癌细胞迁移的作用

播散到血循环的癌细胞, 通过血流到达某一器官时, 通过受体与配体的相互作用在特定部位驻足、生长, 形成新的转移灶, 这种现象类似于炎症中白细胞的趋化运动或淋巴细胞的归巢行为, 因此称为肿瘤的归巢性转移。

趋化因子家族成员是一类细胞因子样小蛋白, 通过与跨膜 G 蛋白偶联受体结合控制着多种类型细胞的迁移。而肿瘤细胞表达趋化因子受体是以一种非随机的方式, 这就提示趋化因子对癌细胞的转移发挥定向归巢的作用。乳腺癌细胞高表达趋化因子受体 CXCR4 和 CCR7, 而它们的配体在乳癌常见转移部位, 如淋巴结、肺、肝及骨髓中有较强表达^[20]。

趋化因子 CXCL12/SDF-1 与其受体 CXCR4 在乳腺癌细胞定向迁移和侵袭转移中的作用越来越受到人们的重视, 它们结合后可以引起一系列细胞反应, 如钙动员、肌动蛋白聚合、癌细胞的趋化运动等。CXCL12 可以激活下游多重信号途径, 引起细胞骨架

蛋白 paxillin 和 Crk、衔接蛋白 Cbl 及相关黏着斑酪氨酸激酶(related adhesion focal tyrosine kinase, RAFTK) / 富含脯氨酸的酪氨酸激酶(proline-rich tyrosine kinase, Pyk2)的磷酸化, 激活 PI3K/AKT 信号通路^[21], 还可以激活 FKHRL1 和 NF- κ B 转录因子^[22], 这些 CXCL12 诱导的信号最终作用于肌动蛋白细胞骨架, 成为癌细胞运动和转移过程中不可缺少的重要部分。

近年来, 随着 3-D 基质培养、激光扫描共聚焦显微技术以及实时成像等技术和方法的发展, 对乳腺癌细胞迁移和转移的分子机制有了更深入的了解。乳腺癌细胞主要通过 Rho GTPases 调节肌动蛋白细胞骨架重组为中心环节的自身调节、与细胞外环境的相互作用以及靶器官对其产生的趋化归巢作用来完成迁移。这些机制的阐明将为阻断乳腺癌的转移提供新的有效策略, 运动调节的关键因子也可成为抗转移治疗的潜在靶点。但是由于细胞迁移在乳腺癌转移中的重要性及其机制的复杂性, 所以关于癌细胞运动能力的获得、运动的细胞与细胞外微环境及第二宿主之间信息传递的分子机制还有待进一步阐明。

参考文献 (References)

- [1] Pollard TD *et al. Cell*, 2003, **112**: 453
- [2] Yamazaki D *et al. Cancer Sci*, 2005, **96**: 379
- [3] Barber MA *et al. Bull Cancer*, 2006, **93**: E44
- [4] Raftopoulou M *et al. Dev Biol*, 2004, **265**: 23
- [5] Chan AY *et al. Oncogene*, 2005, **24**: 7821
- [6] Etienne-Manneville S *et al. J Cell Biol*, 2005, **170**: 895
- [7] Cau J *et al. J Cell Sci*, 2005, **118**: 2579
- [8] Yamana N *et al. Mol Cell Biol*, 2006, **26**: 6844
- [9] Sossey-Alaoui K *et al. Exp Cell Res*, 2005, **308**: 135
- [10] Sossey-Alaoui K *et al. Am J Pathol*, 2007, **170**: 2112
- [11] Sossey-Alaoui K *et al. J Biol Chem*, 2005, **280**: 21748
- [12] Hitchcock-Degregori SE. *Curr Biol*, 2006, **16**: R1030
- [13] Wang W *et al. J Cell Biol*, 2006, **173**: 395
- [14] Elliott BE *et al. Breast Cancer Res*, 2005, **7**: R365
- [15] Borm B *et al. Exp Cell Res*, 2005, **302**: 83
- [16] Goswami S *et al. Cancer Res*, 2005, **65**: 5278
- [17] Wyckoff J *et al. Cancer Res*, 2004, **64**: 7022
- [18] Payne SL *et al. Cancer Res*, 2005, **65**: 11429
- [19] Polgar N *et al. J Biol Chem*, 2007, **282**: 3262
- [20] Müller A *et al. Nature*, 2001, **410**: 50
- [21] Fernandis AZ *et al. Oncogene*, 2004, **23**: 157
- [22] Lee BC *et al. Mol Cancer Res*, 2004, **2**: 327

Regulation of Cell Migration in Metastasis of Breast Cancer

Xiao-Hui Chen, Yu-Mei Feng*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Breast Cancer Prevention and Treatment Key Laboratory of Ministry of Education, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China)

Abstract Cell migration is one of the crucial steps in breast cancer invasion and metastasis. In the process of cell migration, acquisition of the capability of directed migration forced by the reorganization of actin cytoskeleton in regulation of Rho family small GTPases is the primary mechanism. In addition, pleasant local microenvironment provided by the interaction of breast cancer cells and extracellular matrix makes cell migration convenient. Finally, cancer cells are attracted and arrested at the target organs, and proliferate into metastases. Thus, researches of the molecular mechanisms in cell migration may provide novel strategy for anti-metastasis therapy of breast cancer.

Key words cell migration; metastasis; breast cancer

Received: July 27, 2007 Accepted: September 12, 2007

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30471671) and the Applied Basic Research Projects of Tianjin (No.06YFJMJC12900)

*Corresponding author. Tel: 86-22-23520860, E-mail: ymfeng@tjmu.edu.cn