

# 乳腺癌肝脏转移分子生物学机制的研究进展

周四海<sup>1</sup>, 朱荣涛<sup>2</sup>综述, 余正<sup>1△</sup>, 龚建平<sup>2</sup>审校(1. 重庆医科大学附属永川医院普外科 402160; 2. 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 400010)

【关键词】 乳腺癌; 肝脏转移; 分子生物学

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.15.052 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)15-1917-03

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤, 肿瘤晚期易出现复发或远处转移, 其中肝脏转移为乳腺癌晚期转移的第 3 位。肿瘤转移是一种多基因、多分子共同参与、多阶段演进的复杂生物学过程, “归巢理论”认为器官特异性趋化某些肿瘤细胞的转移。乳腺癌转移是肿瘤细胞与机体相互选择、共同作用的结果, 一方面侵袭力强的肿瘤细胞容易转移, 另一方面转移的肿瘤细胞在靶器官微环境的影响下, 肿瘤细胞表现为易侵袭部分脏器, 即转移器官的亲嗜性。本文从乳腺癌肝脏转移的乳腺癌细胞亚型以及肝脏对乳腺癌细胞的选择性分析, 就近期关于乳腺癌肝脏转移的相关分子生物学机制研究做一综述。

## 1 乳腺癌的分子亚型

乳腺癌的分子亚型是基于乳腺癌的生物学行为的异质性, 以肿瘤细胞分子水平表达差异为基础, 通过综合的分子生物学技术, 将乳腺癌分为若干亚型。有研究者于 2000 年首先对乳腺癌的基因表达进行研究, 并提出了乳腺癌的分子分型, 该研究发现肿瘤细胞的基因型存在相对亚型, 不同乳腺癌患者的肿瘤细胞基因表达存在着明显差异, 不同基因型的患者预后明显不同。随着分子生物学的研究发展, 乳腺癌分子分型有了进一步的发展和丰富。近期 Navin 等<sup>[1]</sup>对比分析两个乳腺癌的种群结构, 利用肿瘤单细胞测序方法研究肿瘤细胞进展渐进模型时发现转移至肝脏的乳腺癌肿瘤细胞在基因型上非常接近, 同属一个亚群, 并且这些乳腺癌肝脏转移瘤中不同亚群肿瘤细胞并没有混合在一起, 该研究进一步提示乳腺癌存在不同的分子亚型。目前, 较为认同的乳腺癌基本分子分型是 5 种亚型分类法, 即 Luminal A 型[ER+ 和(或)PR+, HER2-], Luminal B 型[ER+ 和(或)PR+, HER2+], HER2 过表达型(ER-, PR-, HER2+), 基底细胞样(basal-like)型(ER-, PR-, HER2-)及正常乳腺样型。由于各亚型乳腺癌的生物学本质不同, 其肿瘤细胞的生长、侵袭转移存在明显差异, 其中基底细胞样型乳腺癌相对易出现肝脏转移、预后较差。研究发现不同亚型的乳腺癌转移表现一定的器官选择性, 基底细胞样乳腺癌易出现肝、脑、肺转移和远处淋巴结转移, 但少出现骨转移, HER2 高表达者易出现肝脏、脑、肺转移<sup>[2-3]</sup>。

乳腺癌分子分型主要依据其肿瘤细胞免疫表型及基因芯片检测结果, 该分型方法仍在进一步研究和完善中。乳腺癌分子亚型中研究较多的是基底细胞样亚型, 该型乳腺癌肿瘤细胞类似正常乳腺组织的基底细胞, 表达某些细胞角蛋白, 以 ER(-)/HER-2(-) 及基底上皮分子标志物, 如 CK5/6、CK14、CK17 和(或)EGFR 高表达为其特征, 与其他类型乳腺癌相比, 其预后最差, 患者无瘤生存率及总生存率均明显降低。不同类型乳腺癌细胞标记不同<sup>[4-5]</sup>, 基底样乳腺癌及 HER2+ 乳腺癌肿瘤细胞表达 ALDH1 多为阳性, 所有基底样乳腺癌和 52%

的 HER2+ 乳腺癌细胞表达 CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>。部分转移相关基因及蛋白如脂肪酸结合蛋白-7(FABP-7)在基底样乳腺癌亚型细胞明显高表达, 基底样乳腺癌亚型肿瘤细胞核因子-κB(NF-κB)明显高表达, 并且 NF-κB 的激活依赖于其诱导激酶(NIK)的表达。上述改变形成了基底样乳腺癌细胞特有的基因及蛋白表达, 从而决定了乳腺癌肿瘤细胞与其他亚型的不同侵袭转移特性。临床分析发现, 基底细胞样型乳腺癌的转移部位多发生于内脏及中枢神经系统, 如肝脏、肺和脑转移, 而很少出现其他乳腺癌最常见的骨转移。乳腺癌不同亚型的基因型决定不同的肿瘤细胞生长及侵袭转移, 可能影响肿瘤细胞转移过程中靶器官的选择。Koo 等<sup>[6]</sup>通过对比分析乳腺癌不同器官转移患者发现不同免疫表型的乳腺癌细胞表现不同的靶器官转移的选择性, 在乳腺癌肝脏转移患者中约 75.0% 为 ER+ 或 PR+/HER2+ 表型, 提示不同亚型的乳腺癌转移存在明显的器官特异性。ER+ 或 PR+/HER2+ 表型的乳腺癌亚型易出现肝脏转移, 但 ER+ 或 PR+/HER2+ 表型的乳腺癌亚型肝脏转移具体机制有待进一步研究。

## 2 趋化因子及其受体

趋化因子是一类促炎多肽细胞因子的超家族, 主要包括白细胞与造血微环境中的基质细胞分泌的分泌型小分子蛋白。趋化因子可结合在内皮细胞的表面, 具有激活和趋化白细胞的作用。根据其一级结构分为 4 个亚型, 为 CXC、CC、C、CX3C 4 个亚家族。趋化因子受体属于 G 蛋白耦联受体超家族, 其结构中有 7 个疏水的 α 螺旋跨膜片段, 目前研究已经发现包括 6 种 CXC 趋化因子受体(CXCR1-6)、11 种 CC 趋化因子受体(CCR1-11)、1 种 C 趋化因子受体 XCR1 和 1 种 CX3C 趋化因子受体 CX3CR1。现趋化因子及其受体的相互作用, 能诱导肿瘤细胞的趋化性迁移及细胞骨架的重排, 增强肿瘤细胞与内皮细胞的黏附能力等, 广泛参与细胞的生长、发育、分化、凋亡等多种生理功能。趋化因子是宿主调动并激活免疫效应细胞以控制和杀伤乳腺癌肿瘤细胞的重要分子, 但乳腺癌细胞也可能利用趋化因子实现自身的生长, 侵袭乃至向特定器官的转移。Johnson-Holiday<sup>[7]</sup>等通过分析不同侵袭能力的乳腺癌细胞系发现分化越差、侵袭性越强的乳腺癌细胞系表达的 CCR9 越明显, 进一步研究发现, CCR9 通过其配体 CCL25 的刺激明显增强乳腺癌转移瘤的 MMP-1、MMP-9、MMP-11 和 MMP-13 的表达, 提示配体 CCL25 通过结合 CCR9 促进乳腺癌细胞的脏器侵袭转移能力。Andre 等<sup>[8]</sup>分析 823 例乳腺癌患者发现, CXCR4 阳性者易出现骨转移, 10 年内共有 23% 患者出现了骨转移, 提示趋化因子及趋化因子受体参与乳腺癌转移的器官选择性。然而在众多的趋化因子家族中, 对具体的特异性趋化因子及其受体参与的特定器官转移选择性仍有不同观点, 部

分研究发现,乳腺癌 CXCR4 或者 CXCR7 阳性者均易出现骨转移,然而乳腺癌肝脏转移患者 CXCR4 表达却没有明显差异。趋化因子及其受体的表达及相互作用在肿瘤细胞迁移、侵袭和转移的过程中发挥重要作用,但并不是唯一生物分子,与其他相关分子的相互关系和作用机制,及作为乳腺癌肝脏转移、临床治疗靶点仍待进一步研究<sup>[9]</sup>。

### 3 miRNA

miRNA 通过和靶 mRNA 碱基配对引导沉默复合体(RISC)降解 mRNA 或阻碍其翻译,决定组织和细胞的功能特异性,在细胞生长和发育过程的调节过程中起多种作用。最近研究发现,miRNA 表达与乳腺癌相关,大约 50% 的 miRNAs 在基因组上定位于与肿瘤相关的脆性位点,说明 miRNAs 在肿瘤发生过程中起至关重要的作用,可能激活或者抑制肿瘤细胞,具有组织特异性和时序性。Vetter 等<sup>[10]</sup>研究发现 miR-661 通过阻止粘连蛋白-1(Nectin-1)的合成而影响乳腺癌肿瘤细胞的上皮细胞间质化,促进乳腺癌转移。Ma 等<sup>[11]</sup>发现在小鼠体内,由致癌基因 Myc 直接控制的 miR-9 通过调节黏附蛋白(E-cadherin),另一方面 miR-9 也增强了血管的生长,从而增加了肿瘤的血液供应,提高小鼠体内的乳腺癌细胞的侵袭性。研究人员也发现,多个具有抑制乳腺癌肿瘤细胞转移的 miRNA,Connolly 等<sup>[12]</sup>研究发现在乳腺癌肝转移的细胞株 MDA-MB-231 中 miR-21 高表达而 RHOB 低表达,进一步分析发现 miR-21 可以抑制乳腺癌肿瘤细胞抑制物 RHOB 的表达,结果 miR-21 高表达促进乳腺癌肿瘤细胞的增殖及侵袭转移,明显增加了乳腺癌的肝脏转移。随着研究的深入,发现更多 miRNA 的参与乳腺癌的脏器转移<sup>[13-14]</sup>,研究发现,miR-200 高表达抑制 Zeb2 的表达,从而促进 E-cadherin 表达,增强乳腺癌转移灶细胞间质细胞上皮化,利于乳腺癌肿瘤细胞转移的定位,结果促进乳腺癌脏器转移;而 miR-34a 及 miR-199a/b 可以通过调控受体酪氨酸激酶 Axl 的表达,抑制乳腺癌细胞的转移。miRNAs 在肿瘤转移过程中起至关重要的作用,这些 miRNAs 所起的作用类似于抑癌基因或者癌基因的功能。随着对 miRNA 作用机制的进一步的深入研究,以及利用最新的 miRNA 芯片等高通量的技术手段对乳腺癌肝脏转移细胞的 miRNA 研究深入,其在乳腺癌肝脏转移方面可能成为疾病诊断的新的生物学标记或者成为一个分子治疗靶点。

### 4 Claudin 蛋白

Claudin 蛋白又称闭合蛋白,一个 Claudin 蛋白均由 4 个跨膜结构域和 2 个细胞外环组成,其羧基端和氨基端均在细胞质内,Claudin 的两个大小不等的环状结构是形成内皮细胞间紧密连接的重要结构基础。Claudin 蛋白并不局限于紧密连接中,在内脏、神经系统、皮肤组织中均有 Claudin 分布,其表达模式具有一定的组织特异性,目前,已发现至少 24 个家族成员。Claudin 在肿瘤细胞的转移中有重要作用。研究发现,在不同类型的乳腺癌中 Claudin 蛋白的表达水平各不相同,Claudin-3、Claudin-4 在原发性乳腺癌中均有不同程度的高表达,而 Claudin-1、Claudin-7 的表达是下调或者缺失的<sup>[15-16]</sup>。Claudin-1 的低表达与乳腺癌临床分期和淋巴结转移有关,Claudin-7 在高分化浸润性导管癌和高分化原位导管癌中表达缺失,并且 Claudin-7 表达缺失与肿瘤的分级、肿瘤的复发和转移密切相关。Tabariès 等<sup>[17]</sup>进一步研究发现,在肝脏转移的乳腺癌细胞通过 Claudin-2 的表达,增加乳腺癌转移细胞与肿瘤细胞外基质中纤连蛋白、胶原蛋白结合,同时 Claudin-2 可促进肿瘤细胞表面表达整合素  $\alpha_2\beta_1$  和  $\alpha_5\beta_1$ ,从而利于乳腺癌转移细胞在

肝脏归巢,增加乳腺癌肿瘤细胞的肝脏转移。

### 5 肿瘤细胞外微环境

肿瘤细胞外微环境间质中复杂的细胞外基质成分与肿瘤细胞相互作用,从而影响肿瘤细胞肝脏的转移。在肿瘤细胞的游离、迁移、种植转移(归巢)进程中,对肿瘤细胞的归巢认识相对较少。细胞外基质是由细胞合成并分泌至胞外的成分,包括纤维性成分(胶原蛋白、弹性蛋白和网织蛋白)、连接蛋白(纤维粘连蛋白、层粘连蛋白)和空间充填分子(主要为糖胺聚糖)等,其对肿瘤细胞的增殖和分化发挥重要调控作用,不同组织的细胞外基质控制肿瘤细胞迁移的速度与方向,并为肿瘤细胞迁移提供“脚手架”作用,在转移肿瘤细胞的器官选择性方面发挥重要作用。Martin 等<sup>[18]</sup>通过对比同种乳腺癌细胞系在肝、肺不同环境中的侵袭转移性时发现相同乳腺癌细胞在不同组织中的迁徙浸润能力不一,提示乳腺癌肿瘤细胞外环境可以影响乳腺癌的侵袭与转移。Kostic 等<sup>[19]</sup>发现乳腺癌肿瘤细胞可通过表达特异的酪氨酸蛋白激酶 Fyn 降解细胞外基质的纤连蛋白,增加肿瘤细胞的转移,推测细胞外基质的性质决定了部分乳腺癌肿瘤细胞的转移能力。研究发现,细胞黏附分子在乳腺癌转移中发挥重要作用<sup>[20-22]</sup>,E-cadherin 可以促进乳腺癌转移肿瘤细胞的间质细胞上皮化进程,增加乳腺癌转移细胞的归巢可能,促进乳腺癌转移;临床研究发现编码细胞黏附分子的 *CHL1* 基因,在 61% 乳腺癌患者明显低表达,并与乳腺癌发展及转移相关;骨桥蛋白有可能作为乳腺癌的分子标记物,肿瘤细胞通过分泌骨桥蛋白结合到肿瘤微环境中的间质细胞膜受体整合素,使靶器官的间质细胞转化为肿瘤相关成纤维细胞,促进乳腺癌的转移。然而,乳腺癌肿瘤细胞外环境中的间叶干细胞可趋化至肿瘤灶,通过分泌 IFN- $\beta$  抑制信号传导与转录激活因子 Stat3 及 Src 的磷酸化,不但可以抑制乳腺癌肿瘤细胞生长,同时能抑制乳腺癌的转移。细胞外基质的复杂成分为乳腺癌的肝脏转移提供了一定基础,通过一定的黏附分子、细胞受体等信号通路使部分乳腺癌亚型易转移至肝脏。

在乳腺癌肝脏转移进程中,转移肿瘤细胞既可以与靶器官相互作用,同时肿瘤细胞之间又能相互影响。研究发现,在 ER (一)乳腺癌肿瘤细胞发展过程中,缺氧应急激活乳腺癌肿瘤细胞的 TGF 表达<sup>[23]</sup>,TGF 的信号传导激活下游的细胞因子血管生成素样蛋白-4(ANGPTL-4),当表达血管生成素样蛋白-4 的乳腺癌细胞从肿瘤中逸出并储留在靶器官部位后,ANGPTL-4 会破坏薄壁毛细血管细胞间的连接,使乳腺癌转移肿瘤细胞穿越血管壁而进入脏器归巢。该研究显示,存在于原发性乳腺癌肿瘤内的细胞因子可以作用于肿瘤细胞来增强其选择性转移到其他器官组织的能力,并且发现 TGF 的信号通路具有普遍性,在乳腺癌脏器转移选择中有积极意义。相关的细胞信号通路中一定的信号蛋白参与乳腺癌肝脏转移过程有待进一步研究。

在肿瘤细胞外微环境的影响下,乳腺癌肝脏转移的患者中其乳腺癌转移细胞的表型可能会发生明显改变,Hoefnagel 等<sup>[24]</sup>对比原发乳腺癌肿瘤细胞和转移肿瘤细胞 ER $\alpha$ 、PR、HER2 的表达发现,肝脏转移肿瘤细胞表面受体可出现不同程度的改变,ER $\alpha$ 、PR 改变率分别达 10.3% 和 30.0%,其变化多是受体阳性转变为阴性,而受体 HER2 可同时出现双向变化,且两者改变概率无明显差别,乳腺癌肝脏转移患者的 PR 受体主要表现为阴性转化。但是乳腺癌转移肿瘤细胞受体发生变异的环节仍不太明白,其改变可能是肝脏微环境作用与乳腺癌转移肿瘤细胞导致肿瘤细胞受体改变的结果,也可能是肿瘤细

胞定居于肝脏之前的受体改变,其机制仍需进一步研究。

## 6 小 结

乳腺癌肝脏转移是在机体免疫调控下的乳腺癌肿瘤细胞和肝脏相互选择复杂的多步骤过程,具备归巢性和嗜靶器官性。肝脏微环境影响乳腺癌转移肿瘤细胞的生物学行为,通过细胞外基质成分调控、间质细胞、转移瘤细胞重塑等途径调控部分亚型乳腺癌转移细胞的趋化及转移瘤形成。乳腺癌肝脏转移不可能应用某一单一机制完全解释,需要进一步研究。探索乳腺癌肝脏转移的因素应同时从乳腺癌肿瘤细胞与肝脏微环境两个方面入手,以下两方面可能是潜在的关键点。(1)乳腺癌分子分型:异常表达的基因亚型或 miRNA 转录后基因调控的分子亚型乳腺癌表现一定的肝脏转移特异性;(2)肝脏相对高表达的细胞表面受体或蛋白,如 c-kit、血管生成素样蛋白-4、骨桥蛋白等相关细胞因子的参与的乳腺癌肝脏转移的细胞信号通路机制。随着分子生物学技术的进步,对乳腺癌肝脏转移的分子生物学机制将会有更进一步的了解,有望为治疗乳腺癌肝脏转移提供新的靶点。

## 参考文献

[1] Navin N, Kendall J, Troge J, et al. Tumour evolution inferred by single-cell sequencing [J]. *Nature*, 2011, 472 (7341):90-94.

[2] 连臻强,何洁华,王曦,等. 乳腺癌不同分子亚型的临床特点和生存分析[J]. *中华乳腺病杂志:电子版*, 2009, 3(2): 139-146.

[3] Gabos Z, Thoms J, Ghosh S, et al. The association between biological subtype and locoregional recurrence in newly diagnosed breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2010, 12(1):187-194.

[4] Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, et al. Metastatic behavior of breast cancer subtypes [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(20):3271-3277

[5] Tang XY, Umemura S, Tsukamoto H, et al. Overexpression of fatty acid binding protein-7 correlates with basal-like subtype of breast cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2010, 206(2):98-101.

[6] Koo JS, Jung W, Jeong J. Metastatic breast cancer shows different immunohistochemical phenotype according to metastatic site [J]. *Tumori*, 2010, 96(3):424-432.

[7] Johnson-Holiday C, Singh R, Johnson E, et, al. CCL25 mediates migration, invasion and matrix metalloproteinase expression by breast cancer cells in a CCR9-dependent fashion [J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(5):1279-1285.

[8] Andre F, Xia W, Conforti R, et al. CXCR4 expression in early breast cancer and risk of distant recurrence [J]. *Oncologist*, 2009, 14(12):1182-1188.

[9] Cabioglu N, Sahin AA, Morandi P, et, al. Chemokine receptors in advanced breast cancer: differential expression in metastatic disease sites with diagnostic and therapeutic implications [J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(6):1013-1019.

[10] Vetter G, Saumet A, Moes M, et al. miR-661 expression in SNAI1-induced epithelial to mesenchymal transition contributes to breast cancer cell invasion by targeting

Nectin-1 and StarD10 messengers [J]. *Oncogene*, 2010, 29 (31):4436-4448.

[11] Ma L, Young J, Prabhala H, et al. miR-9, a MYC/MYCN-activated microRNA, regulates E-cadherin and cancer metastasis [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(3):247-256.

[12] Connolly EC, Van Doorslaer K, Rogler LE, et al. Overexpression of miR-21 promotes an in vitro metastatic phenotype by targeting the tumor suppressor RHOB [J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(5):691-700.

[13] Dykxhoorn DM, Wu Y, Xie H, et al. miR-200 enhances mouse breast cancer cell colonization to form distant metastases [J]. *PLoS One*, 2009, 4(9):e7181.

[14] Mudduluru G, Ceppi P, Kumarswamy R, et al. Regulation of Axl receptor tyrosine kinase expression by miR-34a and miR-199a/b in solid cancer [J]. *Oncogene*, 2011, 30 (25):2888-2899

[15] Szasz AM, Tokes AM, Micsinai M, et al. Prognostic significance of claudin expression changes in breast cancer with regional lymph node metastasis [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2010, 28(1):55-63.

[16] Akasaka H, Sato F, Morohashi S, et al. Anti-apoptotic effect of claudin-1 in tamoxifen-treated human breast cancer MCF-7 cells [J]. *BMC Cancer*, 2010, 12(10):548.

[17] Tabariès S, Dong Z, Annis MG, et al. Claudin-2 is selectively enriched in and promotes the formation of breast cancer liver metastases through engagement of integrin complexes [J]. *Oncogene*, 2011, 30:1318-1328.

[18] Martin MD, Kremers GJ, Short KW, et al. Rapid extravasation and establishment of breast cancer micrometastases in the liver microenvironment [J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(10):1319-1327.

[19] Kostic A, Lynch CD, Sheetz MP. Differential matrix rigidity response in breast cancer cell lines correlates with the tissue tropism [J]. *PLoS One*, 2009, 4(7):e6361.

[20] Ling X, Marini F, Konopleva M, et al. Mesenchymal stem cells overexpressing IFN- $\beta$  inhibit breast cancer growth and metastases through stat3 signaling in a syngeneic tumor model [J]. *Cancer Microenviron*, 2010, 3(1):83-95.

[21] Weber GF, Lett GS, Haubein NC. Categorical meta-analysis of osteopontin as a clinical cancer marker [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(2):433-441.

[22] Chao YL, Shepard CR, Wells A. Breast carcinoma cells reexpress E-cadherin during mesenchymal to epithelial reverting transition [J]. *Mol Cancer*, 2010, 9:179.

[23] Padua D, Zhang XH, Wang Q, et al. TGF $\beta$  primes breast tumors for lung metastasis seeding through angiopoietin-like 4 [J]. *Cell*, 2008, 133(1):66-77.

[24] Hoefnagel LD, van de Vijver MJ, van Slooten HJ, et al. Receptor conversion in distant breast cancer metastases [J]. *Breast Cancer Res*, 2010, 12(5):R75.