

骨形态发生蛋白-4 在乳腺癌侵袭及转移中作用的研究进展

李 科(综述), 徐卫云(审校)

作者单位: 646000 四川, 泸州医学院附属医院普外科(李 科); 621000 四川, 绵阳市中心医院乳腺外科(徐卫云)

作者简介: 李 科(1979-), 男, 在职研究生, 医学学士, 讲师, 研究方向: 乳腺疾病基础与临床。E-mail: like601@qq.com

通讯作者: 徐卫云(1963-), 女, 医学博士, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 乳腺疾病基础与临床。E-mail: myxueweiyun@163.com

[摘要] 骨形态发生蛋白-4(BMP-4), 又名 BMP-2B, 是转化生长因子- β (TGF- β) 超家族成员之一, 不但有促进人体胚胎发育及细胞增殖、分化、凋亡的能力, 而且在肿瘤增殖、侵袭及转移中起有重要作用。该文结合最新研究进展, 分析 BMP-4 和 BMP-4 受体在乳腺癌中的表达及其信号通路的影响因素和作用, 为了解乳腺癌的发生发展, 提供可能的分子机制。

[关键词] 骨形态发生蛋白-4; 转化生长因子- β ; 乳腺癌

[中图分类号] R 737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2013)02-0179-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.02.32

Advance research on the effect of bone morphogenetic protein-4 on breast cancer's invasion and metastasis

LI Ke, XU Wei-yun. Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Sichuan 646000, China

[Abstract] Bone morphogenetic protein-4 (BMP-4), named BMP-2B else, is number of transforming growth factor beta(TGF- β) superfamily, which not only has the promotion ability of human embryonic development and cell proliferation, differentiation and apoptosis, but also has an important effect on tumor proliferation, invasion and metastasis. In this paper, the latest progress on research of BMP-4 and BMP-4 receptor expression in breast cancer and its signal transduction pathway, influencing factors and function was reviewed, in order to understanding a possible molecular mechanism for the development of breast cancer.

[Key words] Bone morphogenetic protein 4; Transforming growth factor- β ; Breast cancer

1965年, Urist等发现从脱钙骨基质中提取出的蛋白具有诱导骨活性的作用, 这种活性蛋白具有使未分化的间充质细胞向骨细胞定向分化, 进而合成胶原, 形成钙化的骨组织的能力, 被命名为骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)。1988年Wozney等完成对BMP的肽链测序并首次克隆出BMP-2、BMP-3、BMP-4。至今, 已确定21种人骨形成蛋白家族成员, BMP-4是唯一能单独诱导间质细胞向骨组织分化的多肽生长因子^[1]。随着研究的深入, 发现BMP-4与人类恶性肿瘤密切相关^[2,3], 本文综述近年来BMP-4在乳腺癌中作用的研究进展。

1 BMP-4 概述

1.1 BMP-4 基因结构 BMP-4 基因定位于14q22-q-23染色体, 基因全长1.9 KD, 编码408个氨基酸, 有2个编码外显子和3个5'端的非编码外显子, 这

是3个不同的启动子。BMP-4基因在不同的组织、不同的发育阶段采用不同的启动子, 有不同的表达水平。其中COUP-TF1对BMP-4的表达起一定的负性调节作用。

1.2 BMP-4 蛋白结构 BMP属于分泌型多功能糖蛋白, 通过自分泌或旁分泌起作用, 是转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族中最大的一个亚家族成员之一, BMP-4是结构和功能高度保守的蛋白质, 其羧基端为高度保守的结构域, 内含7个位置固定的半胱氨酸。BMP-4合成时为一个前体蛋白, 包括一个氨基端信号肽, 一个前结构域及一个羧基端成熟肽, 约有100~125个氨基酸。当羧基末端区经蛋白酶水解后从前体蛋白上释放出来时, 形成同源或异源的二聚体, 它释放出细胞外与机体其他部位靶细胞表面的相应受体结合而发挥作

用^[4]。

1.3 BMP-4 膜受体和胞内信号传递通路 BMP-4 信号通路的传递过程如下:胞外的配体 BMP-4 与膜表面的 BMP-4 受体复合物特异性地结合;同时, BMP 的 II 型受体磷酸化 I 型受体,形成异源四聚体后,活化后的 I 型受体通过胞内区段的丝氨酸/苏氨酸激酶活性,磷酸化 R-Smad (Smad1、Smad5 和 Smad8)羧基端的丝氨酸残基。R-Smad 活化后从细胞膜受体上脱离下来,通过细胞质内结合 co-Smad (Smad4)后,进入细胞核。在细胞核内,Smad 多元复合物在其他 DNA 结合蛋白的共同参与下作用于特异的靶基因,调控靶基因的转录。

1.4 BMP-4 信号调控 BMP 信号传导途径受多水平、多途径的调控。在细胞外水平方面,BMP-4 受结合蛋白如 noggin 和 chordin 的调节,它们的作用是抑制细胞表面受体活性,防止功能受体复合物的形成;BMP-4 还受蛋白酶 tolloid 的调节,它分解 chordin 的同时释放有活性的 BMP-4;BMP-4 也与细胞表面硫酸肝蛋白糖 (HSPGs) 相结合,它们的结合能促进或抑制 BMP-4 的活性;BMP-4 信号受 follistatin 的调节,后者与 BMP 及其受体形成三聚体,从而妨碍受体的激活;BMP-4 信号通路还受丝氨酸蛋白酶抑制剂 Ep45 的调节,Ep45 为一种 BMP-4 结合蛋白,它能调节 BMP-4 与细胞内基质的相互作用,BMP-4 可正向调节 BMP 对抗物的表达,从而建立了一个自动调节的反馈环。在细胞内水平方面,BMP 信号受 Smad6、Smad7 负向调节,Smad6 和 Smad7 均为细胞内 I 型受体丝氨酸/苏氨酸激酶的拮抗蛋白,能与活化 TGF- β , BMP1 型受体牢固结合,从而阻止 R-Smads 的磷酸化,阻止信号从胞膜传递至胞核内;BMP 信号也受 BAMBI(BMP and activin membrane-bound inhibitor)的调节,BAMBI 是一种跨膜蛋白,它能与 TGF2 β 家族受体稳固结合,防止功能受体复合物的形成,以阻止 BMPs 信号的转导;BMP 信号受泛肽-蛋白连接酶中 Smurf 家族成员的调节,此家族成员的靶蛋白是 BMP 受体及使蛋白体或溶酶体降解的细胞内信号转导级联的其他元件。在胞核水平方面,与 Ski 和 Sno 相似的转录阻遏蛋白,能抑制或终结一定的 BMP 靶基因的转录激活作用。另外,细胞内的分支点以及由不相关的配体和受体结合引发的信号,还可以影响 BMP 信号级联;钙调节蛋白也可作为 Smads 的抑制剂,TAK1 能作为 BMP 信号的诱导剂,并且受酪氨酸激酶可抑制 BMP 信号^[5]。

2 BMP-4 在乳腺癌中的作用

乳腺癌为全球最常见的恶性肿瘤,是女性癌症相关死亡的首要原因^[6,7],BMP-4 在乳腺癌中的作用不完全清楚^[8]。其研究结论也存在矛盾^[9,10]。

2.1 BMP-4 作为抑癌基因的作用 Shon 等^[11]利用 MCF-7 和 MBA-MD-23 癌细胞株体外实验研究表明 BMP-4 诱导 NDRG2 (N-myc downstream-regulated gene 2) 表达抑制乳腺癌细胞的转移潜能,特别是通过抑制基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 活性。蛋白水解促进乳腺癌局部侵袭,癌细胞周围基质蛋白水解主要受 MMP-9 影响。Farnsworth 等^[12]利用动物移植培养研究表明,BMP-4 可以抑制血管内皮生长因子-D (VEGF-D) 驱动转移淋巴结引起的血管重塑,从肿瘤细胞和肿瘤基质细胞水平抑制原发肿瘤的生长。在许多人类癌症的进展中,淋巴结血管的变化发生恶性进展过程里,可能会创建一个能够吸引和支持肿瘤细胞转移的微环境。VEGF-D 通过与淋巴结小静脉内皮细胞上的血管内皮生长因子 2 结合,引起血管重塑,管腔变大,管壁变薄,形成有利于肿瘤生长和转移的微环境。而 BMP-4 能抑制这一过程。Kretschmer 等^[13]通过动物实验及 19 例病例标本检测发现 BMP-4 信号低表达,推测原因是转化生长因子结合蛋白-4 (latent transforming growth factor binding protein 4, LTBP-4) 在乳腺癌组织中低表达,下调 BMP-4 信号通路,降低其下游靶基因如 SMAD, ID2, CTGF 活性,促进肿瘤发展。Pal 等^[14]研究表明在乳腺癌患者体内,BMP-4 和 p38 的降低被证实与乳腺癌转移相关。在临床标本中,发现 BMP-4 和 p38 磷酸化的水平与 CCN6 表达呈负相关。而 CCN6 是一种细胞外基质蛋白,在乳腺癌细胞中过度表达。Rodriguez-Martinez 等^[15]研究认为 BMP-4 表达与 DUSP2 和 PTPRG 转录水平正相关。DUSP2 和 PTPRG 可能是 BMP-4 下游靶点。Sneddon 等^[16]研究表明 BMP 受体拮抗剂 gremlin-1 可能是肿瘤基质的重要成分,为许多癌症中的癌症细胞的存活和扩散提供了有利的微环境。

2.2 BMP-4 作为癌基因的作用 Montesano 等^[17]在乳腺癌干细胞培养中加入 BMP-4,其自身并不能单独促进癌细胞增殖,当同时加入成纤维生长因子 (fibroblast growth factor, FGF-2, FGF-7, FGF-10), 肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 或者表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 混合培养时,BMP-4 极大提高了细胞因子敏感癌细胞的增殖。暗示 BMP-4 可能增强多种生长因子影响的有

丝分裂活动来促进乳腺癌进展。Guo 等^[18]利用体外细胞培养实验检测分析 10 种乳腺癌细胞系 14 种 BMP-4 的表达,发现 BMP-4 是其中表达频率最高的,而且 BMP-4 表达水平可能与乳腺癌潜在转移有联系,在 MCF-7 和 MBA-MD-231 乳腺癌细胞系中高表达促进了显型癌细胞的侵袭和转移,但是 SiRNA 介导 BMP-4 的低表达抑制了癌细胞的侵袭和转移活性,将 MCF-7 和 MBA-MD-23 与类似成骨细胞的 MG63 细胞系混合培养模拟骨转移的微环境,BMP-4 并没有表现出对骨重塑有重要作用的两个细胞因子 OPG 或 RANKL 的明显的影响,Bmps 拮抗剂 Noggin 却可以抑制癌细胞的侵袭、转移和骨的重塑。认为 BMP-4 上调 MMP-1 和 CXCR4 的表达,促进了癌细胞的侵袭和转移。Ketolainen 等^[19]利用体外实验研究表明 BMP-4 信号在乳腺癌细胞基因转录中发挥重要作用并且该效应遵循有逻辑的时程分配模式。研究发现 9 个乳腺癌细胞系出现 BMP-4 诱导的 G1 细胞周期阻滞,同时 1 个乳腺癌细胞系出现 BMP-4 刺激细胞迁移和侵袭,并认为是通过 BMP-4/Smad 信号通路的活化介导的诱导表型的改变,而没有激活 MAP 激酶 ERK1/2 或 p38 激酶信号通路。

2.3 BMP-4 同时作为抑癌基因和癌基因的两面性
Kallioniemi 等^[20]研究表明 BMP-4 能抑制乳腺癌细胞生长,在体外和体内,在同一时间,又能够诱导迁移,侵袭和上皮-间质转化;Montesano^[21]在体外模型中研究发现,BMP-4 在 1~10 ng/ml 的浓度范围内增加时,BMP-4 抑制管腔形成,在高浓度(20~100 ng/ml),BMP-4 破坏细胞间粘附,导致管腔的单个细胞解体并扩散到周围的胶原基质中。BMP-4 通过上述过程参与乳腺癌进展。

3 结语

毫无疑问,BMP-4 在乳腺癌的发生发展中有显著的作用^[22],目前多数的研究结果认为,BMP-4 表现为一种抑癌基因的功能,其在乳腺癌中表达水平降低,促进了乳腺癌的侵袭和转移。但 BMP-4 在乳腺癌中的表达水平和作用仍然存在着争议^[23]。不同结果的原因可能为:(1)各研究者所用肿瘤细胞株不同,各种细胞株存在差异性;(2)与 BMP-4 使用的剂量有关;(3)BMP-4 信号通路和其他信号蛋白通道存在未知的 cross-talk 机制^[24];(4)不同人群中 BMP-4 基因多态性的影响;(5)目前大多数研究结论是从体外乳腺癌细胞株观察中直接得出,过于简单。乳腺癌的发生发展和其所处的微环境密切相关,BMP-4/Smad 信号传导途径与细胞内外其他信

号传导途径互相干扰,影响癌细胞和周围基质细胞分泌的多种细胞因子的表达。BMP-4 在乳腺癌生长、侵袭和转移中确切作用机制和地位还需要大量多中心、随机、双盲临床实验来发现。随着这些问题的深入研究,BMP-4 在乳腺癌的发病机理、治疗靶点、预测疗效等方面的应用前景将更加广阔。

参考文献

- 1 Katagiri T, Suda T, Miyazono K. In: The bone morphogenetic proteins in The TGF- β Family[M]. Derynck R, Miyazono K, editors, 2008:121-149.
- 2 Senta H, Park H, Bergeron E, et al. Cell responses to bone morphogenetic proteins and peptides derived from them: biomedical applications and limitations[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2009, 20(3): 213-222.
- 3 Gordon KJ, Kirkbride KC, How T, et al. Bone morphogenetic proteins induce pancreatic cancer cell invasiveness through a Smad 1-dependent mechanism that involves matrix metalloproteinase-2[J]. Carcinogenesis, 2009, 30(2): 238-248.
- 4 Xie Z, Sheng NY, Jing NH. BMP signaling pathway and spinal cord development[J]. Front Biol, 2012, 7(1): 24-29.
- 5 Schmierer B, Hill CS. TGF β -SMAD signal transduction: molecular specificity and functional flexibility[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(12): 970-982.
- 6 Sadikovic B, Al-Romaih K, Squire JA, et al. Cause and consequences of genetic and epigenetic alterations in human cancer[J]. Curr Genomics, 2008, 9(6): 394-408.
- 7 Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- 8 SuvaLI, Griffin RJ, Makhoul I. Mechanisms of bone metastases of breast cancer[J]. Endocr Relat Cancer, 2009, 16(3): 703-713.
- 9 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- 10 Singh A, Morris RJ. The Yin and Yang of bone morphogenetic proteins in cancer[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2010, 21(4): 299-313.
- 11 Shon SK, Kim A, Kim JY, et al. Bone morphogenetic protein-4 induced by NDRG2 expression inhibits MMP-9 activity in breast cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 385(2): 198-203.
- 12 Farnsworth RH, Kamezis T, Shayan R, et al. A role for bone morphogenetic protein-4 in lymph node vascular remodeling and primary tumor growth[J]. Cancer Res, 2011, 71(20): 6547-6557.
- 13 Kretschmer C, Conradi A, Kemmner W, et al. Latent transforming growth factor binding protein 4 (LTBP4) is downregulated in mouse and human DCIS and mammary carcinomas[J]. Cell Oncol, 2011, 34: 419-434.
- 14 Pal A, Huang W, Li X, et al. CCN6 modulates BMP signaling via the Smad-independent TAK1/p38 pathway, acting to suppress metastasis of breast cancer[J]. Cancer Res, 2012, 72(18): 4818-4828.
- 15 Rodriguez-Martinez A, Alarino EL, Saarinen L, et al. Analysis of

BMP4 and BMP7 signaling in breast cancer cells unveils time-dependent transcription patterns and highlights a common synexpression group of genes[J]. BMC Medical Genomics,2011, 4:80.

16 Sneddon JB, Zhen HH, Montgomery K, et al. Bone morphogenetic protein antagonist gremlin 1 is widely expressed by cancer-associated stromal cells and can promote tumor cell proliferation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2006,103(40):14842-14847.

17 Montesano R, Sarcözi R, Schramek H, et al. Bone morphogenetic protein-4 strongly potentiates growth factor-induced proliferation of mammary epithelial cells[J]. Biochem and Biophys Research Commun,2008, 374(1):164-168.

18 Guo D, Huang J, Gong J, et al. Bone morphogenetic protein 4 (BMP4) is required for migration and invasion of breast cancer[Mol Cell Biochem,2012,363(1-2):179-190.

19 Ketolainen JM, Alarimo EL, Tuominen VJ, et al. Parallel inhibition of cell growth and induction of cell migration and invasion in breast cancer cells by bone morphogenetic protein 4[J]. Breast Cancer Res Treat, 2010,124(2):377-386.

20 Kallioniemi A. Bone morphogenetic protein 4-a fascinating regulator of cancer cell behavior[J]. Cancer Genet,2012,205(6):267-277.

21 Montesano R. Bone morphogenetic protein-4 abrogates lumen formation by mammary epithelial cells and promotes invasive growth[J]. Biochem Biophys Res Commun,2007,353(3):817-822.

22 Jin H, Huang X, Huang F, et al. BMP2 promotes migration and invasion of breast cancer cells via cytoskeletal reorganization and adhesion decrease; an AFM investigation[J]. Appl Microbiol Biotechnol,2012,93(4):1715-1723.

23 Alarimo EL, Kallioniemi A. Bone morphogenetic proteins in breast cancer: dual role in tumorigenesis? [J]. Endocr Related Cancer, 2010,17(2):123-139.

24 Rodriguez-Martinez A, Alarimo EL, Saarinen L, et al. Transcription patterns and highlights a common synexpression group of genes[J]. BMC Medical Genomics,2011, 4(10):80.

[收稿日期 2012-08-23] [本文编辑 刘京虹 谭毅]

新进展综述

精索静脉曲张不育症的研究进展

张伟国(综述), 王晓平(审校)

作者单位: 530001 南宁,广西中医药大学(张伟国); 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院(王晓平)

作者简介: 张伟国(1978-),男,在读研究生,主治医师,研究方向:泌尿男科疾病诊治。E-mail:zwg13575464326@eyou.com

通讯作者: 王晓平(1955-),男,研究生学历,医学学士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:泌尿男科疾病诊治。E-mail:wwxiaoping@163.com

[摘要] 精索静脉曲张(VC)是男性不育症常见病因之一。目前对其机制已进行了不少研究,但仍未完全阐明。该文结合近年的文献资料,对 VC 男性不育症的发病机理、诊疗进展进行阐述,以期能提高临床诊疗水平和统一诊疗规范。

[关键词] 精索静脉曲张; 不育症; 诊断; 治疗

[中图分类号] R 698+.2 [文献标识码] A [文章编号] 1674-3806(2013)02-0182-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.02.33

Research progress on varicocele infertility ZHANG Wei-guo, WANG Xiao-ping. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China

[Abstract] Varicocele(VC) is one common cause of male infertility. A lot of research of its mechanism has been concluded. On the basis of the literature in recent years, pathogenesis, diagnosis and treatment progress of VC infertility was reviewed, in order to improve the level of clinical diagnosis and unified diagnostic and treatment practices.

[Key words] Varicocele; Infertility; Diagnosis; Treatment

精索静脉曲张(varicocele, VC)发病率为10%~15%,多无生育数据^[1],不育男性中发病率为25%~

40%^[2]。目前普遍认为该病与男性不育直接相关,世界卫生组织(WHO)将VC作为男性不育的一个