

role of leptin resistance in nonalcoholic fatty liver disease; a hypothesis based on critical review of literature[J]. Clin Gastroenterol, 2010, 45(1):50-54.

[6] Diehl AM. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. Nonalcoholic fatty liver disease abnormalities in macrophage function and cytokines[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2002, 282(1):G1-G5.

[7] Nicolas JM, Fernandezsola J, Fatjo F, et al. Increased circulating leptin levels in chronic alcoholism[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2001, 25(1):83.

[8] 侯振江, 侯建章. 瘦素与代谢综合征[J]. 检验医学教育, 2011, 18(2):39-41.

[9] Aleffi S, Petrai I, Bertolani C, et al. Upregulation of proinflammatory and proangiogenic cytokines by leptin in human hepatic stellate cells[J]. Hepatology, 2005, 42(6):1339-1348.

[10] Wang J, Leclercq I, Brymora JM, et al. Kupffer cells mediate leptin induced liver fibrosis[J]. Gastroenterology, 2009, 137(2):713-723.

[11] Tang Y, Zheng S, Chen A. Curcumin eliminates leptin effects on hepatic stellate cell activation via interrupting leptin signaling[J]. Endocrinology, 2009, 150(7):3011-3020.

[12] Scherer PE, Williams S, Fogliano M, et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes[J]. J Biol Chem, 1995, 270(45):26746-26749.

[13] Hui JM, Hodge A, Farrell GC, et al. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin[J]. Hepatology, 2004, 40(1):46-54.

[14] Antal M, Regoly MA. New approach in the interpretation of adipose tissue[J]. Orv Hetil, 2010, 151(31):1252-1260.

[15] Li YL, Yang M, Meng XD, et al. The relationship of leptin and adiponectin with insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Zhonghua Ganzangbing Zazhi, 2010, 18(6):459-462.

[16] Wang J, Brymora J, George J. Roles of adipokines in liver injury and fibrosis[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2008, 2(1):47-57.

[17] Xu A, Wang Y, Keshaw H, et al. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice[J]. J Clin Invest, 2003, 112(1):91-100.

[18] Hindle AK, Edwards C, Mendonsa A, et al. Adiponectin but not leptin is involved in early hepatic disease in morbidly obese patients

tients[J]. Surg Endosc, 2010, 24(7):1547-1551.

[19] Poniachik J, Csendes A, Diaz JC, et al. Increased production of IL-1 and TNF-alpha in lipopolysaccharide-stimulated blood from obese patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. Cytokine, 2006, 33(5):252-257.

[20] De Taeye BM, Novitskaya T, Mc Guinness OP, et al. Macrophage TNF alpha contributes to insulin resistance and hepatic steatosis in diet induced obesity[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007, 293(3):713-725.

[21] 林克荣, 杨慧莹. 非酒精性脂肪肝患者血清肿瘤坏死因子-alpha 脂联素水平与胰岛素抵抗的相关性[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(24):2613-2618.

[22] 蒋丽珍. 肿瘤坏死因子-alpha 诱发胰岛素抵抗的机理[J]. 国外医学免疫学分册, 1997, 20(6):311-313.

[23] Kim KH, Lee K, Moon YS, et al. A cysteine-rich adipose tissue specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation[J]. J Biol Chem, 2001, 276(14):11252-11256.

[24] 范建高, 方继伟, 陆元善, 等. 高脂饮食非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏成脂相关基因表达增强[J]. 中华消化杂志, 2006, 26(5):320-324.

[25] Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin[J]. Science, 2005, 307(5708):426-430.

[26] 裴新军, 张静喆. 脂肪细胞因子与胰岛素抵抗关系的研究进展[J]. 医学综述, 2007, 13(16):1201-1203.

[27] Rotter V, Nagaev I, Smith U. Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin resistant subjects[J]. J Biol Chem, 2003, 278(46):45777-45784.

[28] Duseja A, Thumburu KK, Das A, et al. Insulin tolerance test is comparable to homeostasis model assessment for insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Indian J Gastroenterol, 2007, 26(4):170-173.

[29] 程勇, 言红健, 孟杰, 等. 非酒精性脂肪性肝病患者肝损伤程度与 IL-18, IL-8 含量的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(9):1528-1529.

[30] 宁光. 脂肪炎性因子在 2 型糖尿病发病中的重要性[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2006, 22(2):251-253.

(收稿日期:2012-01-20)

• 综 述 •

乳腺癌骨转移微环境的研究进展

任 丽¹综述, 姚 智²审校

(1. 天津医科大学附属肿瘤医院检验科/乳腺癌防治教育部重点实验室/天津市肿瘤防治重点实验室 300060; 2. 天津医科大学免疫学系 300070)

关键词: 乳腺肿瘤; 骨微环境; 骨转移

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 13. 041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)13-1632-03

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 每年世界上大约有 100 万妇女被诊断为乳腺癌, 尤其近年来中国乳腺癌发病率快速上升, 已是中国女性发病率和死亡率最高的恶性肿瘤, 严重威胁女性的健康与生命。乳腺癌最容易远处转移到骨, 其发生率达 65%~75%, 在乳腺癌远处转移中, 首发症状为骨转移者占 27%~50%。乳腺癌骨转移分溶骨性和成骨性两种, 其中

溶骨性骨转移占 80%~85%^[1]。骨转移一旦发生, 预后较差, 5 年生存率仅为 20%^[2]。骨转移还可导致骨痛、病理性骨折、神经压迫症状和高钙血症等并发症。目前有许多证据表明, 在乳腺癌转移的过程中发生了一系列细胞和分子结构的变化, 为乳腺癌细胞的定居提供了适宜的生长环境^[3-4]。由于目前对临床确诊的乳腺癌骨转移尚无良策, 对其发生机制的认识就显得

十分重要,现就乳腺癌骨转移微环境的研究进展作一综述。

1 骨重建的生理学

为了维持骨的完整性,骨不断地进行着重建,骨吸收及骨形成保持着动态平衡,其相继发生在同一部位,而且是以相同顺序进行的,即破骨细胞贴附在旧骨区域,分泌酸性物质溶解矿物质,分泌蛋白酶消化骨基质,形成骨吸收陷窝;其后,成骨细胞移行至被吸收部位,分泌骨基质,骨基质矿化而形成新骨^[5]。成骨细胞和破骨细胞是骨组织特有的两种细胞,在激素及细胞因子作用下作用于骨,是骨代谢过程中的重要核心细胞。

1.1 成骨细胞 成骨细胞起源于多能的骨髓基质的间质细胞,是骨形成的主要功能细胞,负责骨基质的合成、分泌和矿化。RUNX-2 及核结合因子 A1(CBFA1)是成骨细胞分化必须的转录因子,当科研人员将小鼠的 CBFA1 基因敲除后发现成骨细胞的成熟过程受限,从而不能形成骨基质^[6-7]。成骨细胞表达局部或全身性的因子来调控骨的生长,包括:PTH 受体、前列腺素、雌激素、维生素 D3 和生长因子如血小板源性生长因子(PDGF)、成纤维细胞生长因子(FGF),及转化生长因子(TGF- β)^[8-9]。最重要的是,成骨细胞通过在其细胞表面分泌核转录因子- κ B(TNF- κ B)受体启动子配体(RANKL),进而作用于溶骨细胞前体细胞,此后 TNF- κ B 被激活,诱导溶骨反应的发生和骨质吸收。另外,成骨细胞还会分泌骨保护素(OPG),与破骨细胞表面的 RANK 竞争性结合 RANKL,在体内、体外情况下均能抑制破骨细胞的成熟和分化。

1.2 破骨细胞 破骨细胞来源于骨髓中的单核-巨噬细胞克隆形成单位(GM-CFU),紧密黏附于骨组织的破骨面发挥破骨作用,骨基质的无机成分在接触面的酸性环境中分解,有机成分被溶酶体蛋白酶降解。在乳腺癌引起的骨转移中,破骨细胞活化发挥了重要的作用。骨微环境在溶骨发生时通过局部的细胞因子或全身性的激素来调节破骨细胞的产生和活性。RANKL 是破骨细胞产生的一个重要的诱导因子,主要是促进破骨细胞的成熟和分化。但 RANKL 通常表达在成骨细胞和基质细胞表面,通过与破骨细胞表面的特异性受体 RANK 相互作用而激发破骨细胞内一系列的信号转导,从而引起破骨细胞活化^[10]。RANKL 能趋化 RANK 阳性破骨细胞,此作用与趋化因子作用细胞后的重要信号通路-ERK1/2 有关,阻断 ERK1/2 活化可以抑制破骨细胞迁移。该途径对肿瘤细胞作用的研究起步较晚,直到 2007 年才首次出现相关研究报道证实^[11],RANKL 同样对 RANK 阳性肿瘤细胞具有趋化作用。同年的另一项研究显示^[12],正常乳腺上皮和乳腺癌均有 RANK 表达,由于 RANKL 在骨中的特异性高表达,阻断该途径能抑制骨转移发生。Mikami 等^[13]报道,许多发生骨转移的肿瘤细胞表达甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP),并通过诱导 RANKL 表达上调和 OPG 表达下调而激活破骨细胞,导致溶骨性骨转移;并且 PTHrP 与肿瘤患者高钙血症的发生有关。目前认为,肿瘤细胞 PTHrP 的表达主要由骨组织微环境所诱导,而肿瘤细胞表达 PTHrP 由骨质吸收过程中释放的 TGF- β 所诱导;TGF- β 缺失的肿瘤细胞在接种到小鼠体内后引起的溶骨性病损部位明显减少^[14]。骨基质中的 TGF- β 可刺激肿瘤细胞过度表达 PTHrP,PTHrP 又刺激骨髓基质细胞高表达 RANKL,从而刺激了破骨细胞的骨吸收活动。这个恶性循环导致了更进一步的骨破坏。通过抑制骨质吸收活动可以干扰此恶性循环的形成,为抑制肿瘤转移病灶的发展提供治疗契机。除了 PTHrP 外,RANKL 的表达水平还受到骨组织微环

境内很多细胞因子的影响,如 IL-1、IL-6、IL-8、IL-11、TNF- α 等,同时这些因子也能直接参与破骨细胞活化的调控。

2 乳腺癌骨转移的分子机制

早在 1889 年,Paget 等就观察到乳腺癌高骨转移率的特点,并针对不同肿瘤容易发生不同的特异性器官转移特点提出了著名的“种子与土壤”学说,直至今日,该学说依然指导着乳腺癌骨转移机制研究工作^[15-16]。骨组织作为适宜乳腺癌细胞生长的土壤,作用于到达骨微环境的肿瘤细胞使其发生基因和表型改变,使得肿瘤细胞能够在骨组织中存活并增殖,同时,肿瘤细胞产生的细胞因子又作用于骨微环境,使骨微环境发生有利于肿瘤细胞生存的改变。通过肿瘤细胞和骨微环境的相互作用,逐渐形成骨转移。

2.1 乳腺癌细胞分离 乳腺癌细胞与母体瘤分离并开始移动,在淋巴道和血管中运动是其形成远处转移的前提和不可缺少的关键步骤,它的分离倾向与细胞膜结构的变化和黏附力的下降密切相关。在乳腺癌细胞侵袭早期,基底膜已出现节段样变化甚至缺失,其中与蛋白水解酶的作用相关。基质金属蛋白酶(MMPs)家族是一类活性依赖于锌离子和钙离子的蛋白水解酶,主要的生理作用是降解细胞外基质。IV 型胶原是基底膜的主要成分,还包括层粘连蛋白、蛋白多糖、粘蛋白、骨矿化结合素等。MMP-2 和 MMP-9 主要降解基底膜的 IV 型胶原成分,这些 MMPs 在乳腺癌从原位癌发展为浸润性癌的过程中起重要作用。众多研究表明,MMPs 活性与肿瘤的侵袭能力关系密切,Pivetta 等^[17]通过研究发现乳腺癌细胞中 MMP-13 通过刺激破骨细胞分化造成了乳腺癌的骨转移。Casimiro 等^[18]对小鼠动物模型中人乳腺癌细胞系的骨转移基因表达图谱进行分析,发现 IL11/CTGF、IL11/ADAMTS1、CTGF/CXCR4、CTGF/ADAMTS1 及 MMP-1/ADAMTS1 均有过度表达,并且这些蛋白在骨微环境中协同作用,导致乳腺癌骨转移的发生。

2.2 乳腺癌细胞的趋化和黏附 骨组织对乳腺癌细胞的趋化作用是骨转移发生的重要因素,其中趋化因子受体 CXCR4 是一类蛋白耦联受体,可以促使肿瘤细胞趋化、迁移、增殖和血管形成,已证实 CXCR4 表达与乳腺癌进展有关。基质衍生因子 1(SDF-1)作为 CXCR4 配体,在骨和其他乳腺癌易转移器官表达。Kang 等^[19]提出 CXCR4 是与乳腺癌骨转移密切相关 5 个基因之一,并在裸鼠转移模型中证实,肿瘤细胞过表达 CXCR4 能显著增加乳腺癌骨转移发生率^[20]。肿瘤细胞需要在骨中附着才有机会形成骨转移,其中整合素 α v β 3 对于乳腺癌骨转移形成起重要作用,在骨转移中,肿瘤细胞表达的 α v β 3 整合素可与骨桥蛋白、骨唾液蛋白和玻璃粘连蛋白等骨细胞外基质蛋白的 RGD 序列结合,使表达 α v β 3 整合素的乳腺癌细胞容易黏附于骨基质,促进转移形成。有研究发现,表达整合素 α v β 3 的 MDA-MB-231 和 MDA-MB-435 乳腺癌细胞容易转移到骨,而不表达 α v β 3 的 MKL-4 和 T-47D 乳腺癌细胞却未发生骨转移^[21]。

2.3 乳腺癌细胞的骨转移 原发乳腺癌细胞生长相对较缓慢,而一旦远离原发肿瘤和进入骨髓,乳腺癌细胞与骨髓微环境就建立起紧密联系,骨微环境可以提供肿瘤细胞生存、生长的因子,在此过程中,肿瘤细胞与骨微环境之间的相互作用构成骨转移形成的邪恶循环^[22]。骨微环境通过改变肿瘤细胞的表型推进转移性损伤在肿瘤骨转移的恶性循环中起了关键性的作用。骨质中富含的许多生长因子,如 TGF- β 、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、成纤维细胞生长因子(FGF)、血小板衍生生长因子(PDGF)、骨形态发生蛋白(BMPs)、细胞因子、趋化因子、

钙离子和细胞黏附分子等,通过溶骨性作用被释放,同时又刺激骨及肿瘤细胞的增殖。骨基质的低氧、酸性 pH 值、细胞外较高钙离子浓度等物理因素创造了适合肿瘤生长的微环境。而且,骨髓基质细胞很可能与肿瘤细胞的趋化、分化及增殖过程相关,研究人员已经证实癌细胞能通过 NF- κ B 通路的部分信号激活血管细胞黏附分子 1(VCAM-1)的表达,促进微小的转移灶转变为明显转移。VCAM1 并且借助于整合素 $\alpha 4\beta 1$ 与之的相互作用,聚集单核破骨细胞祖细胞,提高局部破骨活性,从而启动骨转移的恶性循环^[23]。总之,骨因为富含许多刺激癌细胞生长和繁殖的因子而呈现出了特有的微环境,为了将这种共生关系进行下去,癌细胞也会产生相应的细胞因子和生长因子直接或间接作用于破骨细胞的骨吸收。在新近的研究中 Sethi 等^[24]采用了同以往完全相反的研究角度发现乳腺癌肿瘤细胞会给骨细胞发出错误的指导信号,瘤细胞的 Jagged1 能激活破骨细胞中的 Notch 信号途径,促进破骨细胞形成和骨吸收,并释放储存于骨基质中的促进骨转移的生长因子,如 TGF- β ,同时 Notch 信号也会导致成骨细胞中 IL-6 表达量增加,给肿瘤细胞发出反馈信号,促进其生长,从而形成一种恶性循环,导致骨转移。

3 小 结

乳腺癌发病率日益增高,目前以手术为主的综合治疗虽然取得了很好的疗效,但骨转移仍然是影响生存率和死亡率的主要因素。虽然乳腺癌骨转移机制方面的研究取得了许多进展,但至今却仍然未完全明了。肿瘤细胞、成骨细胞、破骨细胞和骨基质细胞相互作用,促进溶骨性骨转移的形成和发展,抑制以上任何一个因素都有可能降低骨转移的发生率。因此,对乳腺癌骨转移的进一步研究,开发出新的治疗靶点,将会为乳腺癌骨转移的防治奠定坚实基础。

参考文献

- [1] Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(16):1655-1664.
- [2] Akhtari M, Mansuri J, Newman KA, et al. Biology of breast cancer bone metastasis[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(1):3-9.
- [3] Cawthorn TR, Amir E, Broom R, et al. Mechanisms and pathways of bone metastasis: challenges and pitfalls of performing molecular research on patient samples[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2009, 26(8):935-943.
- [4] Psaila B, Lyden D. The metastatic niche: adapting the foreign soil[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(4):285-293.
- [5] Ye L, Kynaston HG, Jiang WG. Bone metastasis in prostate cancer: molecular and cellular mechanisms[J]. *Int J Mol Med*, 2007, 20(1):103-111.
- [6] Komori T, Yagi H, Nomura S, et al. Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts[J]. *Cell*, 1997, 89(5):755-764.
- [7] Otto F, Thornell AP, Crompton T, et al. *Cbfa1*, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development[J]. *Cell*, 1997, 89(5):765-771.
- [8] Tang Y, Wu X, Lei W, et al. TGF- β 1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation[J]. *Nat Med*, 2009, 15(7):757-765.
- [9] Mohammad KS, Chen CG, Balooch G, et al. Pharmacologic inhibition of the TGF- β type I receptor kinase has anabolic and anti-catabolic effects on bone[J]. *PLoS One*, 2009, 4(4):e5275.
- [10] Ferlin A, Pepe A, Faccioli A, et al. Relaxin stimulates osteoclast differentiation and activation[J]. *Bone*, 2010, 46(2):504-513.
- [11] Mori K, Le Goff B, Charrier C, et al. DU145 human prostate cancer cells express functional receptor activator of NF κ B: new insights in the prostate cancer bone metastasis process[J]. *Bone*, 2007, 40(4):981-990.
- [12] Jones DH, Nakashima T, Sanchez OH, et al. Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL[J]. *Nature*, 2006, 440(7084):692-696.
- [13] Mikami S, Katsube K, Oya M, et al. Increased RANKL expression is related to tumour migration and metastasis of renal cell carcinomas[J]. *J Pathol*, 2009, 218(4):530-539.
- [14] Bhatia V, Saini MK, Shen X, et al. EB1089 inhibits the parathyroid hormone-related protein-enhanced bone metastasis and xenograft growth of human prostate cancer cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(7):1787-1798.
- [15] Sterling JA, Edwards JR, Martin TJ, et al. Advances in the biology of bone metastasis: how the skeleton affects tumor behavior[J]. *Bone*, 2011, 48(1):6-15.
- [16] Sterling JA, Guelcher SA. Bone structural components regulating sites of tumor metastasis[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2011, 9(2):89-95.
- [17] Pivetta E, Scapolan M, Pecolo M, et al. MMP-13 stimulates osteoclast differentiation and activation in tumour breast bone metastases[J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(5):R105.
- [18] Casimiro S, Luis I, Fernandes A, et al. Analysis of a bone metastasis gene expression signature in patients with bone metastasis from solid tumors[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2012, 29(2):155-164.
- [19] Kang Y, Siegel PM, Shu W, et al. A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone[J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(6):537-549.
- [20] Ibrahim T, Sacanna E, Gaudio M, et al. Role of RANK, RANKL, OPG, and CXCR4 tissue markers in predicting bone metastases in breast cancer patients[J]. *Clin Breast Cancer*, 2011, 11(6):369-375.
- [21] Takayama S, Ishii S, Ikeda T, et al. The relationship between bone metastasis from human breast cancer and integrin $\alpha(v)\beta 3$ expression[J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(1A):79-83.
- [22] Li Laine Ooia, Yu Zheng A, Kellie Stalgis-Bilinskic, et al. The bone remodeling environment is a factor in breast cancer bone metastasis[J]. *Bone*, 2011, 48(1):66-70.
- [23] Lu X, Mu E, Wei Y, et al. VCAM-1 promotes osteolytic expansion of indolent bone micrometastasis of breast cancer by engaging $\alpha 4\beta 1$ -positive osteoclast progenitors[J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(6):701-714.
- [24] Sethi N, Dai X, Winter CG, et al. Tumor-derived JAGGED1 promotes osteolytic bone metastasis of breast cancer by engaging notch signaling in bone cells[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(2):192-205.