

BRMS1 与女性恶性肿瘤关系的研究进展

毛莉, 周萍, 史晓敏, 张晶

甘肃省第二人民医院妇产科, 甘肃 兰州 730000

关键词: 乳腺癌转移抑制基因 1; 肿瘤转移抑制基因; 乳腺癌; 卵巢癌; 子宫内膜癌; 恶性肿瘤; 女性

中图分类号: R 737.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)07-0992-03

中国肿瘤登记中心年报显示:我国患恶性肿瘤的概率是 22%,2013 年最新癌谱一大变化是女性癌症发病率上升明显,特别是乳腺癌和宫颈癌。迄今为止,癌细胞侵袭和远处转移仍是恶性肿瘤治疗失败、死亡的主要原因。乳腺癌转移抑制基因 1 (breast cancer metastasis suppressor 1, BRMS1) 是 2000 年 Seraj 等^[1]在乳腺癌细胞中发现的一种肿瘤转移抑制基因 (MSG),可降低乳腺癌细胞的转移潜能,但肿瘤本身生长却不受影响。随后, Cicek 等^[2]发现转染了 BRMS1 之后的乳腺癌细胞其转移潜能降低 50%~90%。因此, BRMS1 与女性恶性肿瘤的关系已成为当前肿瘤研究的热点。

1 BRMS1 与乳腺癌

BRMS1 首先就是在乳腺癌中被发现的一种新的 MSG。Samant 等^[3]在裸鼠体内注入了转染 BRMS1 的转移性 MDA-MB-231 细胞,通过对比分析发现,高转移性乳腺癌细胞向肺部的转移明显减少。随后将 BRMS1 转染导入转移性人乳腺癌 MDA-MB-435 细胞,也得出了同样的结果。进一步证实了 BRMS1 基因具有明显抑制乳腺癌细胞侵袭、转移的作用。Hurst 等^[4]发现在转移性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中, BRMS1 能使 miR-146a 提高 6~60 倍,同时在 MDA-MB-435 细胞中 BRMS1 也能使 miR-146a 提高 40 倍。将 miR-146a 或 miR-146b 转染 MDA-MB-231 后,抑制侵袭和迁移的表皮生长因子受体的表达明显降低,实验性肺转移作用分别下降 69%、84%,这些结果证实 BRMS1 能有效提高 miR-146a 或 miR-146b 水平,此作用机理将为抑制乳腺癌转移治疗的潜在作用提供新的思路。Zhang 等^[5]研究认为,消除 BRMS1 的乳腺癌细胞明显增加了细胞增殖率、细胞迁移和侵袭的速度 ($P < 0.05$)。阻断磷脂酶 C 对 BRMS1 诱导的细胞迁移有抑制作用。最后,观察到在高级别肿瘤、有远处转移和死于乳腺癌的患者的 BRMS1 表达水平显著降低,以及 BRMS1 低水平的乳腺癌患者的总生存率显著下降 ($P = 0.035$)。表明 BRMS1 在人乳腺癌中异常表达与疾病进展和患者生存率呈负相关,这可能是缺乏 BRMS1 对人乳腺癌细胞侵袭迁移影响的结果。

Khotskaya 等^[6]通过延时和共聚焦显微镜观察发现, BRMS1 表达的细胞具有减少整合素-1 和病灶粘着斑激酶的

活性,并降低这些相关分子黏附作用。在 BRMS1 表达的细胞中胶原或纤连蛋白明显降低细胞骨架的重组和细胞黏附突起形成等细胞黏附功能。三维培养条件下, BRMS1 表达的细胞保持圆形,细胞骨架结构将不能重排而形成侵袭的转移病灶。BRMS1 表达的乳腺癌细胞可明显降低细胞对微环境变化刺激的应激能力。Wu 等^[7]还观察到 BRMS1 的表达将诱导乳腺癌 435 细胞的细胞黏附、细胞骨架重排、表面光滑及外形呈梭形等许多表型的改变和下调表皮生长因子受体的表达而抑制癌细胞浸润和转移。可见 BRMS1 可能成为一个重要的乳腺癌的预后指标和晚期转移患者的基因治疗目标。

另外, Vaidya 等^[8]研究认为, BRMS1 表达的乳腺癌细胞将保存它对化疗药物的敏感性。此外, BRMS1 不能改变 Akt 亚型或 PTEN 的表达,但与常见的化疗药物的耐药性密切相关。Hurst 等^[4]研究结果表明,类似表达的 35 kDa BRMS1 蛋白不足以防止转移,剪接变异体的表达差异提示应谨慎评估在临床患者中 BRMS1 mRNA 的应用价值。

2 BRMS1 与卵巢癌

Zhang 等^[9]发现,在原发上皮性卵巢癌中 BRMS1 mRNA 水平明显低于正常卵巢、良性肿瘤 ($P < 0.05$),与 BRMS1 mRNA 水平的统计分析表明,晚期肿瘤 (III、IV 期)的 BRMS1 mRNA 水平明显高于肿瘤的早期阶段 (I、II 期) ($P < 0.01$)。结果推测减少 BRMS1 mRNA 表达似乎影响卵巢癌转移的能力。转染 BRMS1 质粒至高度恶性的卵巢癌细胞系,观察癌细胞在体外和体内的细胞增殖、黏附及侵袭等生物学行为。得到 BRMS1 的表达没有改变 HO-8910PM 细胞的性质及原发肿瘤在体内的增殖,但是, BRMS1 的表达显著抑制细胞黏附于细胞外基质成分和细胞的侵袭作用。此外,静脉注射 BRMS1 的裸小鼠肺转移灶形成明显减少。同时, BRMS1 转染的裸小鼠腹腔器官的卵巢癌转移灶形成明显减少。后来发现, BRMS1 低表达的肌动蛋白成束蛋白与细胞的运动有关,这些数据表明,除了在乳腺癌和黑色素瘤已知的作用之外,作为转移抑制基因 BRMS1 在卵巢癌中还能修改一些转移相关的表型,这为肿瘤患者提供了一个新的基因干预治疗目标。赵晓兰等^[10]发现, BRMS1 在卵巢浆液性腺癌组织中的阳性表达率明显低于正常卵巢和卵巢良性肿瘤 ($P = 0.001$),而 BRMS1 在晚期病例、有淋巴结转移者、肿瘤直径 ≥ 10 cm 中的阳性表达明显下降 ($P > 0.05$), BRMS1 表达与患者绝经与否、组织病理

分级、有无腹水无关($P > 0.05$)。同年,周冬梅等^[11]同时采用蛋白质印迹法检测发现 BRMS1 基因能抑制尿激酶型纤溶酶原激活物(u-PA)表达,此作用可能是通过抑制卵巢癌细胞 NF- κ B 的活性实现的,从而抑制细胞外基质及基底膜的降解,以实现抑制肿瘤转移。

Sheng 等^[12]构建了一个具有对抗 BRMS1 的含有短发夹 RNA(shRNA)质粒,将 shRNA 转染入卵巢癌细胞株 OVCAR3。发现其对 BRMS1 表达下调是有效的。稳定抑制 BRMS1 的表达将显著增强卵巢癌细胞的黏附、迁移、侵袭和血管生成。通过凝胶电泳迁移分析(EMSA)证实核因子 κ B(NF- κ B)信号通路的激活将上调趋化因子受体 4(CXCR4)的表达,这些结果表明,BRMS1 的衰减在促进卵巢癌细胞迁移、侵袭和血管生成中起着关键的调控作用,BRMS1 抑制转移潜能至少部分上通过上调 CXCR4 和 NF- κ B 的活化。因此,BRMS1 功能的修复将是治疗卵巢癌的一个潜在的新战略。Yang 等^[13]认为,BRMS1 的过表达显著抑制体外 MDA-MB-231HM 细胞的迁移。然而,在紫杉醇干预处理后,BRMS1 对癌细胞迁移的影响功能将消除。BRMS1 的过表达将通过激活腺苷酸环化酶而增加细胞内细胞环腺苷酸(cAMP)浓度和蛋白激酶 A(PKA)的活性。此外,BRMS1 过表达上调缝隙连接蛋白 Cx26 的表达,而下调缝隙连接蛋白 Cx32、Cx43 的表达则没有变化。表明 G 蛋白偶联 cAMP 信号通路参与 BRMS1 对乳腺癌细胞 MDA-MB-231HM 细胞迁移的调解作用,BRMS1 通过增加 Cx26 基因在细胞中的表达而改变 Cx26 的表达谱。Sheng 等^[14]发现 BRMS1 沉默的卵巢癌细胞株 OVCAR3 细胞明显提高了癌细胞的侵袭和转移的能力,沉默 BRMS1 将显著诱导 NF- κ B 亚基 p65、uPA 和 OPN 蛋白的表达,即 BRMS1 通过抑制 uPA、P65 和 OPN 蛋白的表达,来抑制卵巢癌细胞的侵袭和转移。这将揭示 BRMS1 抑制卵巢癌细胞转移的新潜在作用机制。

3 BRMS1 与子宫内膜癌

余德荣等^[15]通过逆转录多聚酶链反应(RT-PCR)法检测子宫内膜癌、子宫内膜不典型增生及正常子宫内膜组织中 BRMS1 mRNA 的表达情况,发现 BRMS1 mRNA 在正常子宫内膜(阳性率 86.7%)和子宫内膜不典型增生组织(阳性率 75.0%)中的表达差异无统计学意义;而与正常和不典型增生组织相比,BRMS1 mRNA 在子宫内膜癌中的表达(阳性率 37.5%)明显下降,它们之间均有明显差异($P < 0.05$);而且 BRMS1 mRNA 在子宫内膜癌中的表达与患者的年龄、组织学分型及组织病理分级均无关($P > 0.05$);但与临床分期、肌层侵袭及淋巴结转移密切相关($P < 0.05$)。随着子宫内膜癌的进展而 BRMS1 mRNA 逐渐减少,推测 BRMS1 在子宫内膜癌的癌细胞中具有降低癌细胞的生长、浸润及转移的功能,在肿瘤进展中起着至关重要的作用。

4 BRMS1 抗肿瘤的治疗前景

近几年,随着分子生物细胞学技术的飞速发展,对 BRMS1 的基因、蛋白在肿瘤细胞内通过多种途径调控多个基因的转录、各相关蛋白的翻译及与多种因子、复合物之间相互作用机

制有进一步更深刻的理解,以 BRMS1 多种抗癌细胞侵袭、转移的分子生物学作用机制为基础,迄今为止,已探索出多种癌细胞靶向抗转移的基因治疗的新途径。早在 2010 年 Li 等^[16]研究证实细胞周期调节因子 ING4 诱导 BRMS1,抑制黑色素瘤血管生成和抑制 NF- κ B 活性和 IL-6 的表达。细胞周期调节因子 ING4 功能恢复提供了人类黑色素瘤治疗的一个潜在的新战略。还有学者删除了 BRMS1 基因的卷曲-卷曲结构域而构建了 BRMS1 变异体(BRMS1 Δ CC1)和 BRMS1L174D,在乳腺癌 MDA-MB-231 and 435 细胞中,尽管基本的转录抑制被破坏,但 BRMS1 Δ CC1 和 BRMS1L174D 都可以下调预测转移性 osteopontin 蛋白的表达,同时下调表皮生长因子受体而抑制癌细胞的转移。能修饰 SIN3 去乙酰化酶染色质重塑复合物的 BRMS1 变异体而最终改变了基因表达的特性,虽然肿瘤的转移需要多个基因的协调表达,但至少抑制如表皮生长因子受体这样重要的基因就能抑制癌细胞的转移。Liu 等^[17]研究发现,在相同的条件下,作为一个有效的转录阻遏物-ReIa/p65 磷酸化能够明确激活凋亡细胞抑制剂蛋白 2(cIAP2)(受 NF- κ B 调控的基因)的转录而抑制 BRMS1 的活性。ReIa/p65-DNMT-1 和 ReIa/p65-BRMS1 之间小分子抑制的相互作用能够有效废除 BRMS1 的甲基化和转录的抑制。ReIa/p65 具有直接促进 DNMT-1 进入染色质的能力,从而明确的启动肿瘤转移抑制基因 BRMS1 的甲基化和转移的抑制作用,其创新点是 ReIa/p65 通过调控 NF- κ B 的信号通路可以干预治疗转移性的疾病,为新一代的肿瘤治疗提供潜在的靶点。Wu 等^[18]在肝癌细胞中克隆出一个新的人 BRMS1 转录变异体 brms1.vh,除没有 683-775 碱基,它的 DNA 序列与 BRMS1 主要变异体(BRMS1.V1)相同,编码 215 个氨基酸的蛋白质,缺乏功能性的核定位序列。在肝细胞癌中细胞 brms1.vh 的表达将抑制 NF- κ B 信号通路,提高细胞对凋亡刺激的敏感性,从而阻止肿瘤生长。同时,在调节细胞凋亡和肝细胞癌的生长过程中,brms1.vh 具有潜在的作用。Kramer 等^[19]研究认为,凋亡刺激蛋白-iASPP 能通过干扰其 BRMS1 介导泛素化而稳定组蛋白乙酰转移酶-P300 和卡铂的药物水平,从而促进细胞对凋亡刺激的敏感性。同样,iASPP 的高表达一定程度上能废止 BRMS1 与对 DNA 有损伤的卡铂之间的相互作用。同样,在黑色素瘤细胞系中,iASPP 的表达或者 BRMS1 的沉默均可以提高 P300/卡铂水平,从而促进 DNA 损伤的癌细胞凋亡。Li 等^[20]研究表明,BRMS1 表达抑制内皮细胞生长,在体外抑制 NF- κ B 活性和 IL-6 表达及血管形成能力;抑制 BRMS1 增加 IL-6 的表达和促进内皮细胞的增殖和血管形成。此外,研究显示,BRMS1 介导 IL-6 的表达依赖于 NF- κ B;使用裸鼠研究证实,BRMS1 能抑制血管形成和在基质胶塞中 CD31 阳性细胞的募集。总之,BRMS1 的表达在转移性黑色素瘤减少,导致对血管再生的抑制不足,进而促进黑色素瘤的进展,BRMS1 可能成为一个重要的预后指标和黑色素瘤患者的治疗目标。另外,还有学者发现在体内模型系统 BRMS1 表达导致多个转移环节戏剧性的被抑制,进一步洞察 BRMS1 的生化机制,证实 BRMS1 能与大的染色质重塑复合物(SIN3;HDAC)结合;BRMS1 抑制众所周知的转录因子 NF- κ B

的活性,在肿瘤进展中起重要作用;BRMS1 也能协调调控转移相关 miRNA 的表达。在抗肿瘤转移方面,这些生化机制及生物学途径将为患者提供新的治疗靶点。

参考文献

- [1] Seraj MJ, Harding MA, Gildea JJ, et al. The relationship of BRMS1 and RhoGDI2 gene expression to metastatic potential in lineage related human bladder cancer cell lines [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2000, 18(6):519-525.
- [2] Cicek M, Fukuyama R, Welch DR, et al. Breastcancer metastasis suppressor 1 inhibits gene expression by targeting nuclear factor-kappaB activity [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(9):3586-3595.
- [3] Samant RS, Debies MT, Shevde LA, et al. Identification and characterization of the murine ortholog (brms1) of breast-cancer metastasis suppressor 1 (BRMS1) [J]. *Int J Cancer*, 2002, 97(1):15-20.
- [4] Hurst DR, Xie Y, Edmonds MD, et al. Multiple forms of BRMS1 are differentially expressed in the MCF10 isogenic breast cancer progression model [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2009, 26(2):89-96.
- [5] Zhang Y, Ye L, Tan Y, et al. Expression of breast cancer metastasis suppressor-1, BRMS-1, in human breast cancer and the biological impact of BRMS-1 on the migration of breast cancer cells [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(3):1417-1426.
- [6] Khotskaya YB, Beck BH, Hurst DR, et al. Expression of metastasis suppressor BRMS1 in breast cancer cells results in a marked delay in cellular adhesion to matrix [J]. *Mol Carcinog*, 2014, 53(12):1011-1026.
- [7] Wu Y, McEwen GD, Harihar S, et al. BRMS1 expression alters the ultrastructural, biomechanical and biochemical properties of MDA-MB-435 human breast carcinoma cells; an AFM and Raman microspectroscopy study [J]. *Cancer Lett*, 2010, 293(1):82-91.
- [8] Vaidya KS, Sanchez JJ, Kim EL, et al. Expression of the Breast Cancer Metastasis Suppressor 1 (BRMS1) maintains in vitro chemosensitivity of breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2009, 281(1):100-107.
- [9] Zhang S, Lin QD, Di W. Suppression of human ovarian carcinoma metastasis by the metastasis-suppressor gene, BRMS1 [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2006, 16(2):522-531.
- [10] 赵晓兰, 王平. SATB1、BRMS1 在卵巢浆液性腺癌中的表达及其与临床病理特征的关系 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2011, 42(1):82-85, 105.
- [11] 周冬梅, 生秀杰, 娄思园, 等. BRMS1 基因对卵巢癌细胞侵袭转移作用及其机制的探讨 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2011, 18(15):1161-1165.
- [12] Sheng XJ, Zhou YQ, Song QY, et al. Loss of breast cancer metastasis suppressor 1 promotes ovarian cancer cell metastasis by increasing chemokine receptor 4 expression [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(4):1011-1018.
- [13] Yang YL, Chen CZ, Jin LP, et al. Effect and mechanism of the metastasis suppressor gene BRMS1 on the migration of breast cancer cells [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2013, 6(10):908-916.
- [14] Sheng XJ, Zhou DM, Liu Q, et al. BRMS1 inhibits expression of NF-kappa B subunit p65, uPA and OPN in ovarian cancer cells [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2014, 35(3):236-242.
- [15] 余德荣, 游力, 许晓群, 等. BRMS1 mRNA 和 CD44V6 mRNA 在子宫内膜癌组织中的表达及意义 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2007, 14(4):287-290.
- [16] Li J, Li G. Cell cycle regulator INC4 is a suppressor of melanoma angiogenesis that is regulated by the metastasis suppressor BRMS1 [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(24):10445-10453.
- [17] Liu Y, Mayo MW, Nagji AS, et al. Phosphorylation of RelA/p65 promotes DNMT-1 recruitment to chromatin and represses transcription of the tumor metastasis suppressor gene BRMS1 [J]. *Oncogene*, 2012, 31(9):1143-1154.
- [18] Wu J, Wang YM, Qiao XJ, et al. Cloning and characterization of a novel human BRMS1 transcript variant in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2013, 337(2):266-275.
- [19] Kramer D, Schön M, Bayerlovú M, et al. A pro-apoptotic function of iASPP by stabilizing p300 and CBP through inhibition of BRMS1 E3 ubiquitin ligase activity [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6:e1634.
- [20] Li J, Cheng Y, Tai D, et al. Prognostic significance of BRMS1 expression in human melanoma and its role in tumor angiogenesis [J]. *Oncogene*, 2011, 30(8):896-906.

收稿日期:2016-02-26 编辑:王国品