

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00395

细胞外调节蛋白激酶在雌激素促乳腺癌细胞 MCF-7 增殖中的作用

李苏华, 邓华瑜*, 陈黎

重庆医科大学病理生理学教研室, 重庆 400016

[摘要] **目的:**探讨细胞外调节蛋白激酶(ERK)在雌激素促乳腺癌细胞 MCF-7 增殖、细胞周期转化中的作用及机制。**方法:**以雌激素受体阳性乳腺癌细胞 MCF-7 为研究对象, MTT 法检测 17β -雌二醇(17β -E₂)对 MCF 细胞增殖的影响, 确定实验处理用浓度; MTT 法检测 PD98059 对 17β -E₂ 促 MCF-7 细胞增殖作用的影响, 求取其中效抑制浓度; 流式细胞术检测细胞周期; TRAP-PCR 银染法检测端粒酶活性, Western 印迹法检测 p-ERK1/2、野生型 p53 蛋白水平; RT-PCR 检测野生型 p53 mRNA 水平。**结果:**ERK 磷酸化抑制剂 PD98059 能抑制 17β -E₂ 对 MCF-7 细胞的促增殖作用, 具有时效-量效关系, 其差异具有显著统计学意义($P < 0.01$), 各作用时间点 PD98059 中效抑制浓度分别为 89.28 μ mol/L · 24 h, 39.81 μ mol/L · 48 h, 21.87 μ mol/L · 72 h。应用 PD98059 48 h 后, 能抑制 17β -E₂ 促进 MCF-7 细胞周期转化作用, 使 G₁ 期细胞增加, S 期和 G₂ 期细胞减少 ($P < 0.01$); 抑制 17β -E₂ 增强 MCF-7 细胞端粒酶活性的作用 ($P < 0.05$); 增强野生型 p53 蛋白表达和 p53 基因转录水平 ($P < 0.01$); p-ERK1/2 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。**结论:**ERK 在 17β -E₂ 促乳腺癌细胞 MCF-7 增殖、细胞周期转化中具有重要的作用, 其机制与野生型 p53 转录和端粒酶活性改变有关。

[关键词] 17β -雌二醇; PD98059; 细胞外调节蛋白激酶; p53 基因; 端粒酶; 乳腺肿瘤

[中图分类号] R 737.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)04-0395-05

Role of extracellular signal-regulated protein kinase in estrogen-induced proliferation of breast cancer cell line MCF-7

LI Su-hua, DENG Hua-yu*, CHEN Li

Department of Pathophysiology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the role of extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) in estrogen-induced proliferation and cell cycle transformation of breast cancer cell line MCF-7 and the related mechanisms. **Methods:** Estrogen receptor-positive breast cancer cell line MCF-7 was used in our study. The effects of 17β -E₂ on the proliferation of MCF-7 cells was investigated by MTT assay to determine the optimal concentration of 17β -E₂ for the following experiment. The effect of PD98059 on 17β -E₂-induced proliferation of MCF-7 cells was measured by MTT assay to determine the intermediate concentration of PD98059. The cell cycle was analyzed by flow cytometry and telomerase activity was determined by Telomerase repeat amplification protocol PCR (TRAP-PCR) silver staining. The expression of wild-type p53 and phosphorylated ERK1/2 protein was determined by Western blotting and the expression of wild-type p53 mRNA was detected by RT-PCR. **Results:** ERK phosphorylation inhibitor PD98059 inhibited the proliferation of MCF-7 cells treated with 17β -E₂ in a time- and dose-dependent manner ($P < 0.01$). The intermediate concentrations of PD98059 were 89.28 μ mol/L for 24 h, 39.81 μ mol/L for 48 h and 21.87 μ mol/L for 72 h. Treatment with 20 μ mol/L PD98059 for 48 h reversed the promoting effect of 17β -estradiol on the cell cycle transformation of MCF-7, increasing the number of G₁ phase cells and decreasing the number of S and M phase cells ($P < 0.01$), inhibited the enhancing effect of 17β -E₂ on the telomerase activity of MCF-7 cells ($P < 0.05$), increased the protein expression level and genetic transcription of wild-type p53 ($P < 0.01$), and decreased the expression of p-ERK1/2 protein ($P < 0.01$). **Conclusion:** ERK plays an important role in 17β -E₂-induced proliferation and cell cycle transformation of breast cancer cell line MCF-7, which might be related to the changes of genetic transcription of wild-type p53 and telomerase activity.

[KEY WORDS] 17β -estradiol; PD98059; extracellular regulated protein kinase; p53 gene; telomerase; breast neoplasms

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(4): 395-399]

细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK) 为丝裂原活化蛋白激酶 (mito- gen-activated protein kinase, MAPK) 家族成员, 包括两种异构体 ERK1 和 ERK2 (分别为 p44 和 p42),

[收稿日期] 2008-08-23 **[接受日期]** 2008-11-17

[作者简介] 李苏华, 硕士. E-mail: yihechongtian2@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 023-68485082, E-mail: cqdenghy@yahoo.com.cn

激活 ERK 信号转导通路与细胞增殖、细胞周期转化、分化和凋亡有关。一般认为,ERK 的激活主要由生长因子类配体与细胞表面的相应受体酪氨酸激酶结合启动。雌激素在乳腺癌发生发展过程中具有重要的作用,经典的雌激素作用模式是雌激素先进入细胞核内与雌激素受体(estrogen receptor, ER)结合,使 ER 二聚体化后与雌激素反应元件(estrogen-response element, ERE)及其他转录因子结合,从而促进基因转录,增强细胞周期转化。研究认为,雌激素可能激活 MAPK/ERK^[1]、磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B-Akt(protein kinase B-Akt)等信号转导通路^[2]。这类作用模式不需要雌激素进入细胞核内,而是通过分布于细胞膜的某些雌激素结合蛋白,激活细胞内的信号级联放大反应^[3],与乳腺癌细胞对雌激素敏感性增高和抗雌激素治疗耐受性产生有关。

本研究以雌激素受体阳性(ER⁺)乳腺癌细胞系 MCF-7 为实验对象,经 17 β -雌二醇(17 β -E₂)、17 β -E₂ + ERK 抑制剂 PD98059 分别处理,观察细胞增殖、细胞周期转化的改变,检测 p-ERK、端粒酶活性和野生型 p53 水平,探讨 ERK 在雌激素促乳腺癌细胞 MCF-7 增殖中的作用和可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料 ER⁺人类乳腺癌细胞系 MCF-7 由本校超声研究所实验室提供。新生小牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司,17 β -E₂购自美国 Sigma 公司、PD98059 购自美国 BIOSOURCE 公司。RT-PCR 试剂盒购自杭州博日科技有限公司,TRAP-PCR 银染法端粒酶活性检测试剂盒购自凯基生物科技发展有限公司,p-ERK 鼠抗人单克隆抗体、p53 鼠抗人单克隆抗体、 β -actin 鼠抗人单克隆抗体购自美国的 Santa Cruz 公司。BD. LSR 型流式细胞仪为美国 Beckman Coulter 公司产品,PCR 扩增仪为德国 Biometra 公司产品;凝胶成像系统为美国 Bio-Rad 公司产品。

1.2 去雌激素新生牛血清制备^[4] 新生小牛血清加入葡聚糖(相对分子质量 40 000)25 mg/100 ml,待其完全溶解后再加活性炭 250 mg/100 ml,在 55℃ 水浴中作用 45 min,3 000 \times g 离心 10 min,取上清液。连续处理 2 次以除去血清中的雌激素。处理后的血清用金属滤器(0.45、0.22 μ m 两层滤膜)过滤除菌后,于 -20℃ 保存备用。

1.3 细胞培养和实验分组 将乳腺癌细胞 MCF-7 常规复苏,接种于含 10% 去雌激素新生小牛血清,

10 \times 10⁴ U/L 青霉素,100 mg/L 链霉素和 4 U/100 ml 胰岛素的高糖无酚红 DMEM 培养液中培养。分为 3 组:(1)细胞对照组;不加药,每日换无酚红高糖 DMEM 培养液;(2)17 β -E₂ 处理组;作用浓度为 60 nmol/L;17 β -E₂ + PD98059 处理组;17 β -E₂ 作用浓度为 60 nmol/L,PD98059 作用浓度为 20 μ mol/L。细胞进入对数生长期后加药处理用于实验,每 24 h 换液以维持药物浓度。

1.4 MTT 法测定细胞增殖

1.4.1 MTT 法测定 17 β -E₂ 促 MCF-7 细胞增殖作用 取对数生长期的 MCF-7 细胞,调整细胞密度为 2 \times 10⁴ /ml。取 3 块 96 孔培养板,每孔接种细胞悬液 200 μ l,在 37℃、体积分数为 5% CO₂ 饱和湿度孵箱内培养 24 h 后改无血清无酚红 DMEM 培养液,并按实验分组加药。实验设未加药细胞组、17 β -E₂ 组(设 4、8、20、60、100 nmol/L 5 个浓度),每组设 5 个平行孔。重置 37℃、体积分数为 5% CO₂ 饱和湿度孵箱内培养。分别培养 24、48 和 72 h 后弃上清,每孔加入 MTT 20 μ l(5 mg/ml)及无血清无酚红 DMEM 培养液 200 μ l 继续培养 4 h,取出后 1 000 \times g 离心 10 min,弃上清,每孔加 200 μ l DMSO 震荡 10 min,用酶标仪测定波长 570 nm 的光密度值(D₅₇₀)。实验重复 3 次,取平均值。计算 17 β -E₂ 在不同浓度、不同作用时间对 MCF-7 细胞的增殖率:细胞增殖率 = (17 β -E₂ 组 D₅₇₀ - 未加药组 D₅₇₀) / 未加药组 D₅₇₀ \times 100%。根据结果选取后续实验 17 β -E₂ 促 MCF-7 细胞增殖用药浓度及作用时间。

1.4.2 MTT 法测定 PD98059 对 17 β -E₂ 促 MCF-7 细胞增殖的影响 实验设未加药细胞对照组、60 nmol/L 17 β -E₂ 对照组和 17 β -E₂ (60 nmol/L) + PD98059(10、20、40 和 80 μ mol/L 4 个浓度)组,实验方法同 1.4.1 项。计算 PD98059 对 MCF-7 细胞生长的抑制率:细胞生长抑制率 = [1 - (17 β -E₂ + PD98059 组 D₅₇₀ - 未加药组 D₅₇₀) / (17 β -E₂ 组 D₅₇₀ - 未加药组 D₅₇₀)] \times 100%,并求取 PD98059 对 17 β -E₂ 促 MCF-7 细胞增殖的中效抑制浓度(IC₅₀)。以 PD98059 IC₅₀ 的 1/2 进行后续实验。

1.5 流式细胞术检测细胞周期 常规培养细胞,当细胞进入对数生长期后,改无酚红无血清 DMEM 培养液,17 β -E₂ 组加 60 nmol/L 17 β -E₂, 17 β -E₂ + PD98059 组加 60 nmol/L 17 β -E₂、20 μ mol/L PD98059 培养 48 h 后,胰酶消化,收集细胞,洗涤细胞 2 次。以 70% 冷乙醇固定,4℃ 过夜。洗涤细胞 2 次,加入含 50 μ g/ml RNase 的 500 μ l PBS 溶液,37℃ 水浴 30~60 min。加入含 100 μ g/ml 碘化丙啶(PI)的 PBS 溶液 1 ml,避光染色 30 min,流式细胞

仪测定荧光强度(激发波长 488 nm)。采用 MODFIT2.0 分析软件进行细胞周期 DNA 含量分析。

1.6 TRAP-PCR 银染法检测端粒酶活性 常规培养细胞,细胞分组同 1.5 项下。加药培养 48 h 后,经 PBS 洗涤后按 TRAP-PCR 试剂盒说明提取总端粒酶并进行定量,调整其浓度为 $1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$,取 $2 \mu\text{g}$ 样本利用试剂盒在 PCR 仪进行扩增。扩增条件为 94°C 5 min; 94°C 30 s, 50°C 30 s, 72°C 90 s,33 个循环; 72°C 10 min。对产物进行非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(电泳条件:电压 $17.5 \text{ V}/\text{cm}$,时间 50 min),然后对胶进行银染。相隔 6 bp 的梯状条带的深浅表示端粒酶活性的强弱,并用 Quantity One 软件分析,以对照组第一条条带为标准,求得各组条带灰度值总和来表示端粒酶活性相对强弱。

1.7 Western 印迹法检测 p-ERK1/2 和 p53 表达 常规培养细胞,细胞分组如前。加药培养 48 h 后,分别收集对照组与实验组细胞约 5×10^6 个,用 RIPA 细胞裂解液裂解细胞,提取总蛋白。用 Bradford 法测定蛋白含量。取 $60 \mu\text{g}$ 细胞总蛋白进行 12% 变性 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转移至 PVDF 膜。常规封闭、洗膜后与 1:300 鼠抗人 p-ERK、p53 抗体 4°C 孵育过夜,洗膜后加入 1:1 000 羊抗鼠 IgG/HRP 37°C 孵育 2 h。ECL 显色,用 Bio-Rad 图像分析系统照相、Quantity One 软件分析蛋白相对含量。

1.8 RT-PCR 检测 p53 mRNA 的表达 常规培养细胞,细胞分组如前。加药培养 48 h 后,用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,测定 RNA 纯度和浓度,逆转录反应合成第一链 cDNA,进行 PCR 反应。p53 引物:上游 $5'$ -TCA GTC TAC CTC CCG CCA TAA - $3'$,下游 $5'$ -TTT CTT ACA TCT CCC AAA CAT CC- $3'$,扩增产物长度 326 bp; GAPDH 引物:上游 $5'$ -GGC AAA TTC CAT GGC ACC GTC- $3'$,下游 $5'$ -CAT ACT CAG CGC CAG CAT CGC- $3'$,扩增产物长度 128 bp。反应条件为: 94°C 预变性 2 min 后, 94°C 变性 30 s, 57°C 30 s, 72°C 30 s,35 个循环;最后 72°C 延伸 10 min。取 $5 \mu\text{l}$ PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳,溴化乙啶显色,Quantity one 软件分析各扩增条带产物的含量。

1.9 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用多样本均数比较的方差分析、多重比较的 q 检验对数据进行分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 $17\beta\text{-E}_2$ 和 PD98059 对 MCF-7 细胞增殖影响 MTT法结果表明, $17\beta\text{-E}_2$ 具有促进 MCF-7 细胞

增殖的效应,浓度在 $1 \sim 100 \text{ nmol}/\text{L}$ 之间,随着时间的延长、剂量的增加其促增殖作用增强($P < 0.01$,图 1)。以 $60 \text{ nmol}/\text{L}$ 雌激素用于后续实验。

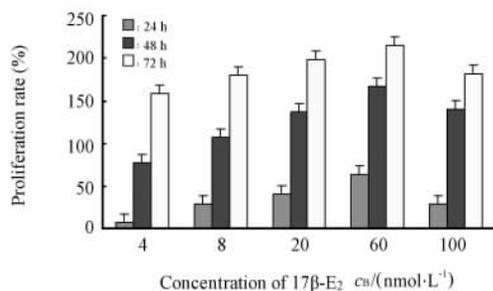


图 1 $17\beta\text{-E}_2$ 对 MCF-7 细胞的增殖作用

Fig 1 Effect of $17\beta\text{-E}_2$ on proliferation of MCF-7 cells

$P < 0.01$ among different concentrations and time groups. $n = 15, \bar{x} \pm s$

PD98059 能够抑制 $17\beta\text{-E}_2$ 对 MCF-7 细胞的促增殖作用,随剂量的增加和时间的延长,抑制作用增强,差别具有统计学意义($P < 0.01$,图 2)。PD98059 对 $60 \text{ nmol}/\text{L}$ 的 $17\beta\text{-E}_2$ 阻抑的 IC_{50} 分别为 $89.28 \mu\text{mol}/\text{L} \cdot 24 \text{ h}$, $39.81 \mu\text{mol}/\text{L} \cdot 48 \text{ h}$, $21.87 \mu\text{mol}/\text{L} \cdot 72 \text{ h}$ 。以 PD98059 的 48 h IC_{50} 的一半,约 $20 \mu\text{mol}/\text{L}$ 为后续实验作用浓度。

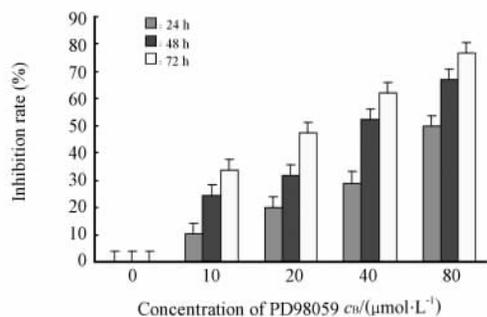


图 2 PD98059 对 $17\beta\text{-E}_2$ 处理的 MCF-7 细胞的抑制作用

Fig 2 Inhibitory effect of PD98059 against MCF-7 cells treated with $17\beta\text{-E}_2$

$P < 0.01$ among different concentrations and time groups. $n = 15, \bar{x} \pm s$

2.2 $17\beta\text{-E}_2$ 和 PD98059 对 MCF-7 细胞周期的影响 如表 1 所示, $17\beta\text{-E}_2$ 作用 48 h 后能促进 MCF-7 细胞周期转化,使 G_1 期细胞减少,S 期和 G_2 期细胞增多,细胞增殖明显($P < 0.01$);联合应用 PD98059 后, G_1 期细胞增加,S 期 + G_2 期细胞减少 ($P < 0.01$),应用 PD98059 后, G_1 期细胞增加,但仍低于细胞对照组,S 期细胞减少,但仍高于细胞对照组,即 PD98059 对 $17\beta\text{-E}_2$ 促 MCF-7 细胞周期逆转未恢复到细胞对照组水平($P < 0.01$)。

表 1 17β-E₂和 PD98059 对 MCF-7 细胞周期的影响

Tab 1 Effect of 17β-E₂ and PD98059 on cell cycle of MCF-7 cells

(%, n=3, $\bar{x} \pm s$)

Group	G ₁	S	G ₂
Control	71.86 ± 2.34	20.45 ± 1.96	7.69 ± 1.78
17β-E ₂	57.19 ± 2.17**	33.92 ± 2.21**	8.37 ± 1.69
17β-E ₂ +PD98059	65.11 ± 2.08**△△	26.53 ± 1.82**△△	8.89 ± 1.72

** P<0.01 vs control group; △△ P<0.01 vs 17β-E₂ group

2.3 17β-E₂、PD98059 对 MCF-7 细胞端粒酶活性的影响 如图 3 所示,17β-E₂处理 48 h,其相隔 6 bp 的梯状条带与细胞对照组相比较深,条带数目增多,而应用 PD98059 后,其相隔 6 bp 的梯状条带与 17β-E₂单独作用组相比较浅,各组条带灰度值总和分别为:对照组为 3.855 2,17β-E₂组为 6.120 8,17β-E₂+PD98059 组为 4.691 7,三组间差异具有统计学意义(P<0.05)。说明 17β-E₂增强 MCF-7 细胞的端粒酶活性,PD98059 能阻抑 17β-E₂增强 MCF-7 细胞端粒酶活性的作用。

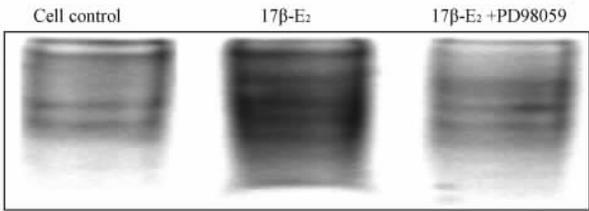


图 3 MCF-7 细胞端粒酶活性

Fig 3 Telomerase activity of MCF-7 cells

2.4 17β-E₂、PD98059 对 MCF-7 细胞 p-ERK1/2 和 p53 表达的影响 见图 4。Western 印迹结果显示:60 nmol/L 的 17β-E₂作用 MCF-7 细胞 48 h 后,与细胞对照组相比,p-ERK1/2 蛋白的表达增加,p53 蛋白表达降低(P<0.01)。应用 PD98059 后,与 17β-E₂组相比,p-ERK1/2 蛋白表达降低,p53 表达增加(P<0.01)。

进一步通过 RT-PCR 分析 p53 mRNA(图 5),发现 60 nmol/L 的 17β-E₂作用 MCF-7 细胞 48 h 后,与不加药对照组相比,野生型 p53 mRNA 表达降低(用药前为 0.374 2 ± 0.027 2,用药后为 0.228 2 ± 0.030 9, P<0.01)。联合应用 PD98059 后,野生型 p53 mRNA 表达增高至 0.307 6 ± 0.013 4,与 17β-E₂组相比差异具有统计学意义(P<0.01)。

3 讨论

雌激素在促进乳腺癌的发生发展中具有重要的作用地位,抗雌激素的内分泌治疗是乳腺癌临床治疗的一种被广泛应用而有效的措施。临床研究发现,

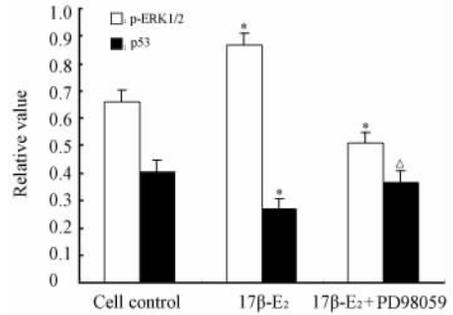
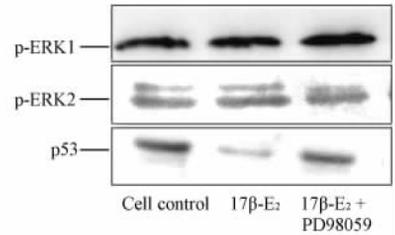


图 4 17β-E₂和 PD98059 对 MCF-7 细胞中 p-ERK1/2、p53 表达的影响

Fig 4 Effect of 17β-E₂ and PD98059 on expression of p-ERK1/2 and p53 protein in MCF-7 cells

* P<0.05 vs control group; △ P<0.05 vs 17β-E₂ group; n=3, $\bar{x} \pm s$

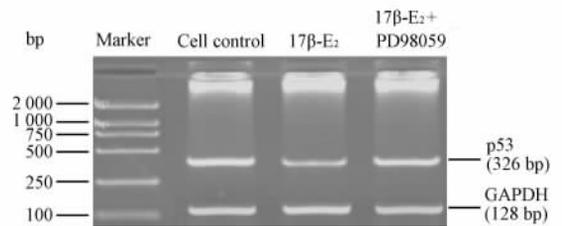


图 5 17β-E₂和 PD98059 对 MCF-7 细胞中 p53 mRNA 表达的影响

Fig 5 Effect of 17β-E₂ and PD98059 on expression of p53 mRNA of MCF-7 cells

最初对抗雌激素治疗敏感的乳腺癌患者随治疗时间的延长,敏感性降低,有的最终产生耐受性^[1]。Martin 等^[5]通过体外实验发现,通常情况下,200 pg/ml 以上剂量雌激素刺激才能促进 MCF-7 细胞生长,长时期脱离雌激素的乳腺癌细胞 MCF-7 对雌激素刺激的敏感性显著增加,10~15 pg/ml 的量就能刺激 MCF-7 细胞生长。这种乳腺癌细胞对雌激素敏感

性增加和抗雌激素治疗耐受的现象引起关注。Yue 等^[6]研究发现 17 β -E₂ 能使多肽生长因子受体磷酸化,如胰岛素样生长因子受体。Migliaccio 等^[7]认为乳腺癌细胞 MCF-7 在 17 β -E₂ 刺激下使非受体酪氨酸激酶 Src 磷酸化。多肽生长因子受体磷酸化是 ERK 信号转导通路激活的重要始动环节。而 Src 也是 ERK 激活的一个重要因子,其持续激活可激活 ERK 信号转导通路。这些研究提示雌激素有可能通过激活 ERK 信号转导通路来促进 MCF-7 细胞增殖和细胞周期转化。

17 β -E₂ 是机体内主要的雌激素存在形式,通过经典的雌激素核受体模式促进乳腺癌细胞 MCF-7 增殖。本研究明确证实 17 β -E₂ 可促进 ER⁺ 乳腺癌细胞 MCF-7 增殖作用,其增殖效应应具有时效-量效依赖关系:在 1~100 nmol/L 浓度范围,随作用时间的延长,17 β -E₂ 促 MCF-7 细胞增殖作用增强,并促进 MCF-7 细胞周期由 G₁ 期向 S、G₂ 期转化。经 Western 印迹检测显示 17 β -E₂ 可增强 p-ERK1/2 的表达,同时应用 ERK 磷酸化抑制剂 PD98059 后, p-ERK1/2 表达下降。相应地,17 β -E₂ 促 MCF-7 细胞增殖的效应受到抑制,这种抑制效应呈时效-量效正性依赖关系。17 β -E₂ 促 MCF-7 细胞周期转化的效应亦受到抑制,G₁ 期细胞增多,S 期细胞减少,细胞被阻滞于 G₁ 期。这表明 ERK 在雌激素促乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的作用中具有重要作用。

野生型 p53 蛋白是重要的抑癌基因产物,负性监控细胞周期转化,诱导凋亡。Hsu 等^[8]研究发现癌基因 MCT-1 可通过增强 ERK1/2 蛋白磷酸化水平来降低野生型 p53 的表达。肿瘤细胞 p53 调控障碍、端粒酶活性增高是其具备无限增殖的基础。Benvenuti 等^[9]发现 17 β -E₂ 促进神经元端粒酶逆转录酶 (human telomerase reverse transcriptase, hTERT) 表达。雌激素对乳腺癌细胞 MCF-7 端粒酶活性的影响未见明确报道。有学者证实人参皂苷可通过抑制 ERK, 间接降低肝癌细胞端粒酶活性^[10], 但由雌激素激活 ERK 后能否影响 MCF-7 细胞端粒酶活性也未见相关文献报道。本研究发现, 17 β -E₂ 可降低 p53 蛋白表达和 p53 mRNA 转录水平, 增强端粒酶活性; 应用 PD98059 可抑制 17 β -E₂ 的效应, 使 p53 蛋白表达和 p53 mRNA 转录水平增高, 端粒酶活性降低。提示雌激素可通过 ERK 信号转导通路调控 p53 转录表达, 影响细胞端粒酶活性。

综上,我们认为,雌激素促乳腺癌细胞增殖、细

胞周期转化作用除通过经典的 ER 核受体作用模式外, ERK 信号转导通路亦具有重要的意义, 雌激素可能通过激活 ERK 信号通路下调 p53 转录表达, 上调端粒酶活性, 从而影响细胞增殖和细胞周期转化。

[参考文献]

- [1] Santen R J, Song R X, Zhang Z, Yue W, Kumar R. Adaptive hypersensitivity to estrogen: mechanism for sequential responses to hormonal therapy in breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(1 Pt 2):337S-345S.
- [2] Dominguez R, Liu R, Baudry M. 17-Beta-estradiol-mediated activation of extracellular-signal regulated kinase, phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B-Akt and N-methyl-D-aspartate receptor phosphorylation in cortical synaptoneuroosomes[J]. *J Neurochem*, 2007, 101:232-240.
- [3] 王麟, 魏敏杰, 金万宝. α -雌激素受体介导的膜信号转导通路[J]. *生命的化学*, 2006, 26:526-529.
- [4] Westley B, Rochefort H. A secreted glycoprotein induced by estrogen in human breast cancer cell lines[J]. *Cell*, 1980, 20:353-362.
- [5] Martin L A, Farmer I, Johnston S R, Ali S, Marshall C, Dowsett M. Enhanced estrogen receptor (ER) alpha, ERBB2, and MAPK signal transduction pathways operate during the adaptation of MCF-7 cells to long term estrogen deprivation[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278:30458-30468.
- [6] Yue W, Wang J P, Conaway M R, Li Y, Santen R J. Adaptive hypersensitivity following long term estrogen deprivation: involvement of multiple signaling pathways[J]. *J Steroid Biochem Mol Cell Biol*, 2003, 86(3-5):265-274.
- [7] Migliaccio A, Di Domenico M, Castoria G, Nanayakkara M, Lombardi M, de Falco A, et al. Steroid receptor regulation of epidermal growth factor signaling through Src in breast and prostate cancer cells: steroid antagonist action[J]. *Cancer Res*, 2005, 65:10585-10593.
- [8] Hsu H L, Choy C O, Kasiappan R, Shih H J, Sawyer J R, Shu C L, et al. MCT-1 oncogene downregulates p53 and destabilizes genome structure in the response to DNA double-strand damage[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2007, 6:1319-1332.
- [9] Benvenuti S, Luciani P, Vannelli G B, Gelmini S, Franceschi E, Serio M, et al. Estrogen and selective estrogen receptor modulators exert neuroprotective effects and stimulate the expression of selective Alzheimer's disease indicator-1, a recently discovered antiapoptotic gene, in human neuroblast long-term cell cultures[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90:1775-1782.
- [10] Kim Y J, Kwon H C, Ko H, Park J H, Kim H Y, Yoo J H, et al. Anti-tumor activity of the ginsenoside Rk1 in human hepatocellular carcinoma cells through inhibition of telomerase activity and induction of apoptosis[J]. *Biol Pharmaceut Bull*, 2008, 31:826-830.

[本文编辑] 孙岩