

肿瘤细胞中脂肪酸合成酶和人表皮生长因子受体 2 的联系

张 好,殷正丰*

(第二军医大学东方肝胆外科医院分子肿瘤实验室,上海 200438)

[摘要] 肿瘤细胞的生理生化特性不同于正常的组织细胞,其中某些基因会出现异常表达。基因表达上调为靶向给药提供了靶点,从而避免在治疗肿瘤时伤及正常细胞。脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)和人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)都是在肿瘤细胞中高表达的分子。针对 HER2 的赫赛汀(herceptin)已应用于乳腺癌的临床治疗并取得了良好疗效,而针对 FAS 的药物浅蓝霉素也正在进行临床试验。近年来研究发现,FAS 和 HER2 在某些肿瘤细胞(如乳腺癌细胞、卵巢癌细胞等)中同时高表达,相互之间存在着信号通路上的联系,而且用药后具有协同抑制作用。本文对肿瘤细胞中二者的相互联系作一综述。

[关键词] 肿瘤;脂肪酸合成酶;受体,表皮生长因子;信号转导;基因表达

[中图分类号] R 730 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)11-1255-04

Relationship between fatty acid synthase and human epidermal growth factor receptor-2 in tumor cells

ZHANG Yu, YIN Zheng-feng* (Molecular Oncology Laboratory, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

[ABSTRACT] Tumor cells have different physiological and biochemical features as compared to normal cells; abnormal expression of certain genes is also found in tumor cells. Over-expression of genes provide targets for targeted-administration of drugs, which can avoid damage to normal cells during treatment of tumors. Fatty acid synthase (FAS) and human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) are both over-expressed in some tumor cells. Herceptin, an HER2-targeted agent, has been used to treat HER2-positive breast cancer patients worldwide and has obtained satisfactory outcome. Cerulomycin, an agent-targeting FAS, is now in FDA clinical trial. Recent researches have shown that FAS and HER2 are simultaneously over-expressed in some tumors, such as breast cancer cells and ovarian cancer cells; and there is a connection between their signal pathways and a synergistic effect between them. This paper reviews the relationship between FAS and HER2 in tumor cells.

[KEY WORDS] neoplasms; fatty acid synthase; receptor, epidermal growth factor; signal transduction; gene expression

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(11):1255-1258]

1994年, Kuhajda等^[1]发现了一种癌基因抗原-519,即脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)。FAS是一种酶类复合物,相对分子质量约为270 000,包含有7种酶活性和1个酰基载体蛋白(ACP),其底物为乙酰辅酶A,终产物为软脂酸。正常情况下,FAS在肝脏中参与脂类物质的合成,然后运送到代谢活跃的组织或储存于脂肪组织^[2-3]。大多数人体其他组织倾向于利用外源性循环脂肪酸合成结构脂类,因此FAS含量很低。然而,大量的研究^[4]表明,FAS在具有侵袭性的癌组织中持续高表达,并且不受正常细胞中调节信号的调控,自行合成内源脂肪酸以合成大量脂类物质,用于细胞膜类结构的构造,满足肿瘤细胞不断增殖的需要。因此,FAS基因高表达被认为是肿瘤发展过程中的早期分子事件,在高侵袭力的肿瘤细胞中表达更显著,并与不良预后有关。

人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)是酪氨酸激酶受体,属于 erbB 家族,与上皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)非常相似,相对分子质量约为 185 000,因此又被称为 p185。erbB 家族包括 EGFR3(erbB1)、HER2(erbB2)、erbB3 和 erbB4,都是酪氨酸激酶受体,参与调节细胞的生长与分

化^[5]。在这一家族中,HER2 和 EGFR 研究得最为广泛,它们与配体结合以二聚体的形式发挥作用,一旦激活,在体内通过 PI3K/Akt 通路或 RAS/RAF 或 JAK 通路下传信号,激活特定基因的转录。HER2 在多种肿瘤细胞中都有表达,如乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胃癌、结肠癌等,参与这些肿瘤细胞生长的调节。HER2 高表达预示着肿瘤患者的预后不良,且肿瘤细胞对化疗药物易产生耐药性^[6]。

近年来,不少研究^[7]发现,FAS 及 HER2 在肿瘤发生过程中具有一定相关性,二者在信号通路上的联系也得到了实验的证实,分别针对这两个靶点的药物之间也体现了一定的相互协同效应,二者之间的联系引起了广泛的关注。本文对肿瘤细胞中二者的相关性作一综述。

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)(2002CB523100)。Supported by National Program on Key Basic Research Projects(“973” Program)(2002CB53100)。

[作者简介] 张 好,硕士生。E-mail:OCT0072004@yahoo.com.cn

* Corresponding author. E-mail:yinzfk@yahoo.com.cn

1 HER2 与 FAS 在信号通路上的联络

HER2 作为癌细胞表面受体与其配体结合后,可经 Ras/Raf 和 PI3K/AKT 两条主要通路下传信号。近来的研究^[6]发现,HER2 和 FAS 在某些癌细胞中有同时高表达的现象。不论是对 FAS 进行药物抑制还是基因沉默都可抑制 HER2 表达,而 HER2 过表达也可使 FAS 表达增高,表明 FAS 和 HER2 之间具有双向调节的机制。

应用不同方法可以测定 FAS 及 HER2 在肿瘤细胞中的表达,从而确定它们之间是否存在关联。Silva 等^[8]应用免疫组织化学方法检测 62 例头颈鳞状上皮细胞癌标本中 FAS、HER2 和增殖标记 Ki-67 的表达,发现大约 78% 的标本 FAS 或 HER2 阳性,70% 的标本 FAS 和 HER2 同时强阳性。然而仅应用基于蛋白水平的免疫组化方法似乎难以准确地判断 FAS 表达阳性是由 HER2 阳性表达引起的,还是存在对其表达有重要影响的其他分子。同时的阳性表达也不能断定二者是否的确存在相互制约的关系。Slichenmyer 等^[9]应用 cDNA 芯片分析乳腺癌细胞株,鉴定出一组与 HER2 过表达相关的基因,可以被 HER2 抑制剂(herceptin、CI-1033)同时抑制。FAS 是这组基因之一,在乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌和结肠癌中均过表达,而在 HER2 阳性细胞中的转录活性约是阴性细胞中的 8 倍。

Kumar-Sinha 等^[6]在转录、翻译和生物合成水平的研究为 FAS 和 HER2 在信号转导过程中分子间的相互作用提供了证据。将 FAS 基因启动子-报告基因构建体转染入人乳房上皮细胞 HER2 过表达细胞株(H16N2-HER2)和对照细胞株,结果观察到 FAS 的表达活性在 H16N2-HER2 细胞株中较在对照细胞株中提高了 2~3 倍^[10]。同时,Alli 等^[11]通过药物的抑制作用研究也揭示了 HER2 对 FAS 表达的调控。使用 neu-N 转基因鼠乳腺癌模型,每周给予 C75(一种有效的 FAS 抑制剂),10 周后显著延缓了肿瘤的发生,220 d 后只有 20% 给药小鼠体内形成肿瘤,而对照组则为 50%。与对照组相比,给药组细胞凋亡增加,DNA 合成减少,FAS、neu、Akt、磷酸化 Akt 和 p21 表达减少,而这些蛋白均是其信号转导的组成部分。可见,FAS 抑制剂是一个可影响包括肿瘤发生、发展和恶性表型维持的关键癌基因。

Swinnen 等^[12]报道了生长因子相关的 FAS 过表达,并发现前列腺癌细胞株 LNCaP 中表皮生长因子引起的 FAS 过表达是通过激素受体元件结合蛋白(sterol receptor element binding protein, SREBP)途径实现的。SREBP 家族是一类转录因子,它们用于激活胆固醇和脂肪酸合成相关的基因,由细胞外信号经 PI3K 通路和 MAPK 通路传递进行调节。NIH-3T3/HER-2 细胞也显著高表达 FAS,同样经由 PI3K 通路和 MAPK 通路调节。可见,信号分子与 HER2 受体结合,可通过 PI3K 通路传递信号促使 SREBP 与 SREBP-BS 结合,激活了 FAS 启动子起始转录,最终引起体内脂肪酸合成量增高^[6](图 1)。

在纷繁复杂的细胞内部信号网络中,HER2 与 FAS 只是众多信号通路中的两个节点,而通路中许多的信号分子都起着同样至关重要的作用。HER2 与其他信号分子(如 COX2)之间的关系是否也影响其与 FAS 的相互作用还有待进一步的实验证实。

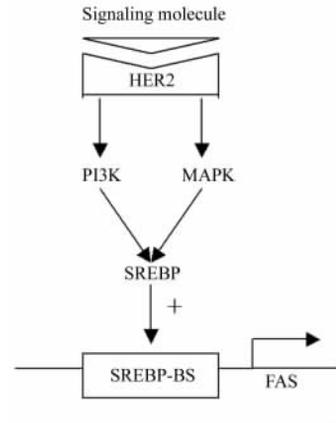


图 1 HER2 与 FAS 间的信号通路
Fig 1 Signal transduction networks between HER2 and FAS

2 肿瘤细胞中 HER2 与 FAS 表达的相互影响

2.1 FAS 抑制剂对 FAS 和 HER2 表达的影响 常用的 FAS 抑制剂包括浅蓝霉素和 C75,可使 HER2 过表达的乳腺癌细胞和卵巢癌细胞中的 HER2 的表达及生物活性降低。SK-Br3 乳腺癌细胞经浅蓝霉素处理后,HER2 含量呈浅蓝霉素剂量依赖性减少,与未给药的细胞相比,减少的程度从浅蓝霉素为 1.25 μg/ml 的 14% 到 10 μg/ml 的 78%。浅蓝霉素给药时,HER2 mRNA 表达下调,而 C75 给药时则检测不到 HER2 mRNA。FAS 抑制剂对 HER2 的抑制作用同样表现在 HER2 过表达的乳腺癌细胞 BT-474、MDA-MB-453 和 HER2 正常表达的 T47-D 细胞中,表明 FAS 抑制剂对 HER2 表达和活性的抑制作用并非 HER2 高表达的乳腺癌细胞和卵巢癌细胞所独有^[13]。由此可见,FAS 抑制剂在抑制 FAS 的同时可以抑制 HER2 的活性,分别从信号通路的源头和终点阻止了信号的转导,这样的双重作用还可以避免其他的生长因子结合 HER2 来刺激细胞增殖。

PEA3 的累积被认为是 FAS 抑制剂引起的早期分子事件。PEA3 属于 Ets 家族转录因子(约有 35 个家族成员,有一个含 85 个氨基酸的保守区,这一保守区以单体形式结合在 DNA 5'-CAG GAA T-3'序列上调控基因的转录活性),作为 HER2 的转录抑制因子可以使 HER2 mRNA 表达下调。这种下调与观察到的 HER2 蛋白的表达是一致的。在使用 FAS 抑制剂时,由于抑制了 FAS 的催化作用,其催化底物丙二酸单酰辅酶 A 含量增加。而丙二酸单酰辅酶 A 含量可作为一种细胞能量的指示剂,这种能量可用于合成内源 HER2

启动子的抑制因子 PEA3^[14](图 2)。

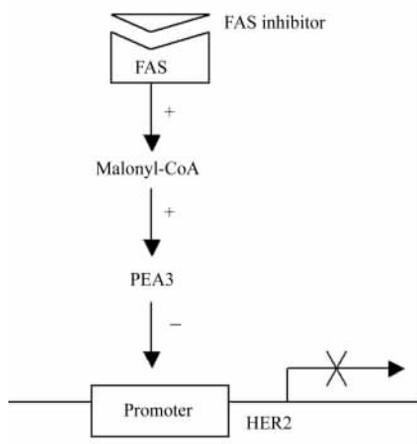


图 2 FAS 抑制剂对 HER2 表达的调节

Fig 2 Regulation of HER2 gene expression induced by FAS inhibitors

沉默 FAS 基因导致的 HER2 表达下调也是通过 PEA3 的作用而实现的。然而两者的不同之处在于, FAS 的药物抑制促使 HER2 蛋白组成结构在细胞内重分配, 即从细胞膜转移到细胞质、核周及核内, 而基因沉默则没有这种功能^[13]。而浅蓝霉素对 FAS 的抑制作用伴随着多种促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白的累积、活化和(或)细胞内的重分布^[15]。浅蓝霉素的药物抑制是在蛋白功能水平上的抑制, 而基因沉默是在转录水平上的抑制。由此可见, FAS 蛋白存在与否, 药物抑制对 HER2 的作用方式也有所不同。因此, 在研究药物作用时也应着眼于药物的作用方式, 作用在不同分子水平上的药物其效应途径有很大不同。

2.2 HER2 抑制剂对 HER2 和 FAS 表达的影响 erbB 家族的抑制剂包括 herceptin 和小分子的酪氨酸激酶抑制剂。而激酶抑制剂 CI-1033 具有抑制整个 erbB 家族活性的潜能^[16]。在 HER2 过表达的 H16N2 细胞(肿瘤上皮细胞)中, FAS 转录水平提高近 4 倍, herceptin 和 CI-1033 都能降低其转录水平。这一结果并非只发生在某一特定细胞系中, 在内源性高表达 HER2 的乳腺癌细胞系 SK-Br3 中, herceptin 同样可以下调其 FAS 转录水平^[6]。同时, 在这两种细胞系中都观察到依赖于 HER2 的 FAS 蛋白表达, 这与上述所观察到的依赖于 HER2 的 FAS 转录一致。

2.3 合用 FAS 抑制剂和 HER2 抑制剂对肿瘤细胞生长的影响 合用 FAS 抑制剂浅蓝霉素和 HER2 抗体 herceptin 可降低 HER2 蛋白表达, 减弱细胞生存能力。FAS 抑制剂在转录水平上抑制 HER2 表达, HER2 抑制剂则通过与 HER2 的胞外结构域结合, 阻碍胞内的信号转导, 并促进 HER2 的降解。但并非所有 HER2 过表达的细胞都对 herceptin 敏感, 有时细胞也会产生耐药性^[17]。已有研究^[18]表明, 肿瘤细胞对 herceptin 的敏感性与 HER2 的基因表达谱

有关, 或者与代偿的促生存信号通路(compensatory pro-survival signaling pathway)的存在有关。为证明 FAS 的信号激活是否影响 herceptin 的治疗效果, Kumar-Sinha 等^[6]观察了浅蓝霉素和 herceptin 对 HER2 高表达、正常表达和低表达细胞的细胞毒性作用。实验结果显示, 浅蓝霉素给药提高了 herceptin 对 HER2 过表达细胞的药理作用, 并且呈浅蓝霉素浓度依赖形式。这一结果在 SK-Br3 细胞中表现明显, 浅蓝霉素应用使其对 herceptin 的敏感度提高了 200 倍, 在 BT-474 细胞中则提高了 52 倍。同时, herceptin 给药后的这两种细胞对浅蓝霉素的敏感度分别提高了 8 倍和 38 倍。这种协同作用在 HER2 正常表达的 T47-D 细胞和低表达的 MCF-7 乳腺癌细胞中均有体现。

药物间的相互促进作用为寻找新药提供了依据, 在提高药效的同时还可以降低药物的使用剂量, 不断地改变两种药物的比例, 寻找一个最适合的点, 将普通药物与 herceptin 这一典型药物联系起来, 其中也蕴藏了巨大的发展前景。

2.4 HER2 表达对 FAS 抑制剂敏感性的影响 细胞是否表达 HER2 以及表达高低都影响到细胞对 FAS 抑制剂的敏感度。如 H16N2-HER2 细胞对由 C75 所引起的凋亡比对照细胞具有显著的敏感性。为了证明细胞对 FAS 抑制剂敏感度的增加是否由 HER2 含量引起, Kumar-Sinha 等^[6]先使用 HER2 抑制剂 CI-1033 作用 H16N2-HER2 细胞, 然后 C75 给药, 结果观察到 C75 所导致的细胞毒性被 CI-1033 的作用所阻止。这一发现也与 HER2-FAS 信号转导致瘤轴的观点相一致^[6]。MDA-MB-231 细胞低表达 FAS 并且对 FAS 抑制剂耐药, 外源过表达 HER2 后对 FAS 抑制剂敏感度大大提高。因此认为, HER2 表达水平可作为细胞株对 FAS 抑制剂敏感度的一个预测指标。

如上所述, 协同给药不仅可以减少细胞对 herceptin 的耐药性, 也可以弥补由于 HER2 低表达而造成的细胞对 FAS 抑制剂敏感性降低这一缺陷。而协同给药又不同于先后给药, 如先行给药 CI-1033, 作用于 HER2 的信号转导, 导致 FAS 的合成减少, 对 FAS 抑制剂的作用产生了负面影响, 而 herceptin 与 CI-1033 的作用方式不同, 其先行给药是否也会产生这种作用则有待进一步的实验证实, 其结果也影响到给药方式等问题。

3 临床应用及其研究方向

目前, 与 FAS 和 HER2 相关的一些药物, 有些已应用于临床, 并在肿瘤治疗方面有良好的疗效。如乳腺癌手术后 herceptin 与化疗药物联合使用, 其作用远高于单独使用化疗药物, 并且大大降低了发生心力衰竭的可能性。同时, 人们也不放弃对新药物的寻找。

由于 FAS 的脂类合成特性促使人们将一些减肥药物用于抑癌作用的研究。最近一项研究^[14]表明, 地中海地区的食物中含有的橄榄油能抑制肿瘤发生, 其食谱中所含的特殊脂肪酸——油酸(oleic acid, OA)能够抑制 HER2 过表达。

在 HER2 基因扩增的癌细胞中, OA 能够上调 Ets 蛋白 PEA3, 而 OA 的这种作用也仅在 FAS 协同高表达的细胞中才得以发挥。由阿斯康利研制的易瑞沙 (Iressa) 是世界上第一个表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂, 可用于局部晚期或转移性肺小细胞肺癌的治疗。易瑞沙可降低 HER2 和 EGFR 的磷酸化, 同时经 MAPK 途径的有丝分裂信号传递也大大降低^[19]。此药对细胞增殖的抑制或许也涉及到 FAS 表达的降低。

总之, FAS 与 HER2 在基因和蛋白水平都存在相互作用, 与肿瘤的发生发展相关联, 从 HER2 到 FAS 的信号通路中的信号分子也为靶向给药提供了靶点。因此, 在肿瘤诊断和治疗过程中可以结合两者间的这些特性, 提高诊治效果。

[参考文献]

- [1] Kuhajda F P, Jenner K, Wood F D, et al. Fatty acid synthesis: a potential selective target for antineoplastic therapy[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 6379-6383.
- [2] Wakil S J. Fatty acid synthase, a proficient multifunctional enzyme[J]. Biochemistry, 1989, 28: 4523-4530.
- [3] Weiss L, Hoffmann G E, Schreiber R, et al. Fatty-acid biosynthesis in man, a pathway of minor importance. Purification, optimal assay conditions, and organ distribution of fatty-acid synthase[J]. Biol Chem Hoppe Seyler, 1986, 367: 905-912.
- [4] Menendez J A, Lupu R. Fatty acid synthase-catalyzed de novo fatty acid biosynthesis: from anabolic-energy-storage pathway in normal tissues to jack-of-all-trades in cancer cells[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2004, 52: 414-426.
- [5] Kolibaba K S, Druker B J. Protein tyrosine kinases and cancer [J]. Biochim Biophys Acta, 1997, 1333: F217-F248.
- [6] Kumar-Sinha C, Ignatoski K W, Lippman M E, et al. Transcriptome analysis of HER2 reveals a molecular connection to fatty acid synthesis[J]. Cancer Res, 2003, 63: 132-139.
- [7] Pan M H, Lin C C, Lin J K, et al. Tea polyphenol (-)-epigallocatechin 3-gallate suppresses heregulin-beta1-induced fatty acid synthase expression in human breast cancer cells by inhibiting phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and mitogen-activated protein kinase cascade signaling[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55: 5030-5037.
- [8] Silva S D, Agostini M, Nishimoto I N, et al. Expression of fatty acid synthase, ErbB2 and Ki-67 in head and neck squamous cell carcinoma. A clinicopathological study[J]. Oral Oncol, 2004, 40: 688-696.
- [9] Slichenmyer W J, Elliott W L, Fry D W. CI-1033, a pan-erbB tyrosine kinase inhibitor[J]. Semin Oncol, 2001, 28(5 Suppl 16): 80-85.
- [10] Heemers H, Maes B, Foufelle F, et al. Androgens stimulate lipogenic gene expression in prostate cancer cells by activation of the sterol regulatory element-binding protein cleavage activating protein/sterol regulatory element-binding protein pathway [J]. Mol Endocrinol, 2001, 15: 1817-1828.
- [11] Alli P M, Pinn M L, Jaffee E M, et al. Fatty acid synthase inhibitors are chemopreventive for mammary cancer in neu-N transgenic mice[J]. Oncogene, 2005, 24: 39-46.
- [12] Swinnen J V, Heemers H, Deboel L, et al. Stimulation of tumor-associated fatty acid synthase expression by growth factor activation of the sterol regulatory element-binding protein pathway[J]. Oncogene, 2000, 19: 5173-5181.
- [13] Menendez J A, Vellon L, Mehmi I, et al. Inhibition of fatty acid synthase (FAS) suppresses HER2/neu (erbB-2) oncogene overexpression in cancer cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 10715-10720.
- [14] Slamon D J, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2 [J]. N Engl J Med, 2001, 344: 783-792.
- [15] Lane H A, Beuvinck I, Motoyama A B, et al. ErbB2 potentiates breast tumor proliferation through modulation of p27 (Kip1)-Cdk2 complex formation: receptor overexpression does not determine growth dependency[J]. Mol Cell Biol, 2000, 20: 3210-3223.
- [16] Slichenmyer W J, Fry D W. Anticancer therapy targeting the erbB family of receptor tyrosine kinases[J]. Semin Oncol, 2001, 28(5 Suppl 16): 67-79.
- [17] Menendez J A, Lupu R. Mediterranean dietary traditions for the molecular treatment of human cancer: anti-oncogenic actions of the main olive oil's monounsaturated fatty acid oleic acid (18:1n-9)[J]. Curr Pharm Biotechnol, 2006, 7: 495-502.
- [18] Menendez J A, Ropero S, Mehmi I, et al. Overexpression and hyperactivity of breast cancer-associated fatty acid synthase (oncogenic antigen-519) is insensitive to normal arachidonic fatty acid-induced suppression in lipogenic tissues but it is selectively inhibited by tumoricidal alpha-linolenic and gamma-linolenic fatty acids: a novel mechanism by which dietary fat can alter mammary tumorigenesis[J]. Int J Oncol, 2004, 24: 1369-1383.
- [19] Piechocki M P, Yoo G H, Dibley S K, et al. Iressa induces cytostasis and augments Fas-mediated apoptosis in acinic cell adenocarcinoma overexpressing HER2/neu[J]. Int J Cancer, 2006, 119: 441-454.

[收稿日期] 2007-05-16

[修回日期] 2007-08-26

[本文编辑] 贾泽军