

成骨细胞特异性转录因子 2 与乳腺癌*

付晓珍^{1, 2)} 李洪艳^{1, 2)} 张叶军^{1, 2)} 屈超^{1, 2)} 钟广英^{1, 2)} 刘晶³⁾ 邹伟^{1, 2)**}

(¹⁾ 辽宁师范大学生命科学学院, 大连 116081; (²⁾ 辽宁省生物技术与分子药物研发重点实验室, 大连 116081;

(³⁾ 大连医科大学附属第一医院中英再生医学应用研究中心, 大连 116011)

摘要 Runx2 为成骨细胞特异性转录因子, 调控成骨细胞分化和骨组织的形成. 近年来研究表明, Runx2 在乳腺癌中可以激活与癌症转移相关的骨基质、黏附蛋白、金属蛋白酶以及血管内皮生长因子, 并且 Runx2 可以与一些联合抑制剂或激活剂形成调控复合体, 在亚核结构域中存在, 调节基因的转录以及间接地影响乳腺癌细胞的信号通路. 除此之外, Runx2 还可以与雌激素受体相互作用在某种程度上解除雌激素及其受体在乳腺癌发展中的调控作用. 本文主要概括 Runx2 在乳腺癌中的作用机制, 重点综述 Runx2 在乳腺癌中与雌激素受体相互作用的研究进展.

关键词 Runx2, 乳腺癌, 骨转移, 信号通路, 雌激素受体

学科分类号 Q2

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00141

哺乳动物成骨细胞特异性转录因子(Runx)包括三种含有同源结构域的转录因子亚型 Runx1、Runx2、Runx3, 它们可以作为不同组织分化的调控基因发挥其生物学功能. 研究发现 Runx 家族蛋白既具有促进肿瘤发生的作用又存在一定的抑癌作用, Runx 家族所调控基因的异常表达与细胞的分化以及肿瘤的发生密切相关^[1]. 在各类白血病中常发现 Runx1 的突变和染色体异位, 在转移性的子宫内膜癌中也发现 Runx1 的存在, 研究发现过表达 Runx1 具有致癌的作用^[2]. Runx3 具有抑制肿瘤的作用, 可以抑制肿瘤细胞的增殖以及肿瘤的转移. 有研究表明, 其作用机制包括 Runx3 在乳腺癌中的蛋白质错误定位和启动子甲基化, 以及通过蛋白酶体途径靶向降解雌激素受体 α 和介导乳腺癌中的相关信号通路^[3].

Runx2 是 Runx 家族中的一种转录因子, 其缺乏会导致成骨细胞发育受阻影响骨骼的生成(图 1)^[4]. 此外, 其对于软骨细胞的成熟同样起着重要的促进作用^[5]. Runx2 在间叶中的表达决定成骨细胞的表型是骨生成的必要条件, 而其在乳腺癌及前列腺癌中的高表达则是癌症骨转移的关键调控因素^[6-7]. 近年来 Runx2 与癌症的关系成为研究 Runx2 功能的热点, 尤其在女性高发的乳腺癌中 Runx2 所具有的调控作用更是研究的侧重点.

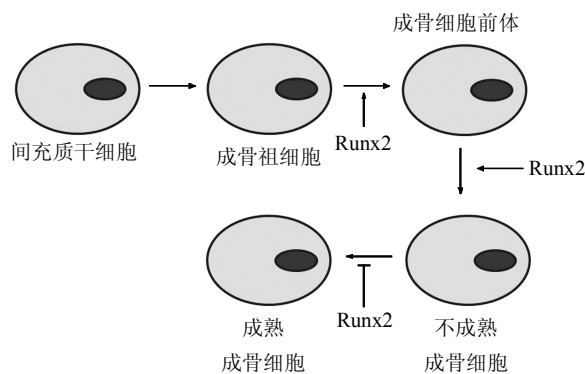


Fig. 1 The effects of Runx2 in osteoblast differentiation and development^[4]

图 1 Runx2 在成骨细胞分化发育中的作用^[4]

1 Runx2 在乳腺癌中的作用机制

与正常乳腺上皮细胞相比较, Runx2 在一些乳

* 国家自然科学基金(30970353, 30570225)和科技部国家科技合作专项(2010DFR30850)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0411-82857080, E-mail: weizou60@hotmail.com

收稿日期: 2013-04-24, 接受日期: 2013-08-14

腺癌细胞中高表达, 这种现象首先与乳腺癌的高度转移性是密不可分的^[8]. 除此之外, Runx2 在乳腺癌细胞中的过表达还具有改变乳腺腺泡表型的作用, 从而促进细胞增殖、减少细胞凋亡以及减少基底膜的形成^[9]. Runx2 在多个方面对乳腺癌的进程进行调控, 在乳腺癌的整个发展进程中都起着非常重要的作用.

1.1 Runx2 是乳腺癌骨转移的主要激活因子

每年约有 35 万人死于癌症的骨转移, 70% 的乳腺癌会伴随有骨转移的发生, 一旦骨转移则无药可治, 所以骨转移成为女性乳腺癌致死的关键因素^[10]. 骨转移主要有两种类型, 对骨组织进行破坏性损伤的称为溶骨性骨转移; 阻止新骨生成的为成骨性骨转移^[11]. Runx2 同时对于两种类型的骨转移都有调控作用, 其既可以激活破骨细胞又可以抑制成骨细胞的转化^[12]. 在高转移性的乳腺癌细胞系 MDA-MD-231 中, Runx2 可以直接与基质金属蛋白酶 9(MMP-9) 启动子相结合调控其过表达增加乳腺癌细胞的侵袭能力^[13]. 除此之外, Runx2 还可以调控 MMP-13、血管内皮生长因子等肿瘤转移相关蛋白的表达, 从而增加乳腺癌溶骨性骨转移^[14].

1.2 Runx2 间接调控基因表达参与信号通路

辽宁省生物技术与分子药物研发重点实验室前

期研究表明, PI3K-Akt 信号通路在乳腺上皮细胞恶性转化中具有重要的作用^[15]. 而近期 Pande 等^[16]的研究证明, PI3K-Akt 信号通路在乳腺癌中的调控机制是通过其下游转录因子 Runx2 实现的. 在高转移性乳腺癌细胞系 MDA-MD-231 中骨唾液酸糖蛋白(BSP)可以抑制细胞的黏附性增加癌症转移以及促进癌组织血管再生^[17]. 在乳腺癌细胞中, Runx2 可以与 BSP 启动子 110bp 处转录抑制区相结合, 从而激活乳腺癌中 BSP 的表达^[18]. 在乳腺癌中 Runx2 常与 CBF- β 形成联合激动剂调控骨桥蛋白、MMP-9、MMP-13 以及骨钙蛋白的表达^[19]. Runx2 与 CBF- β 联合还可以调控硬化蛋白的表达, 从而抑制 Wnt 信号通路以及调控成骨细胞激动剂(IL-11)和白细胞-巨噬细胞群落刺激因子(GM-CSF)的表达^[20]. 在乳腺癌细胞中, Runx2 可以绑定在性腺功能低下症基因 IHH 的启动子上增加其表达水平, 并进一步激活甲状旁腺激素有关缩氨酸 PTHrP 的表达, 从而参与 IHH-PTHrP 信号通路的调控, 促使乳腺癌进入溶骨损伤的恶性循环^[21]. 综上所述, Runx2 通过调控多种转移相关基因的表达参与细胞内信号通路, 影响乳腺癌细胞的黏附和转移(图 2).

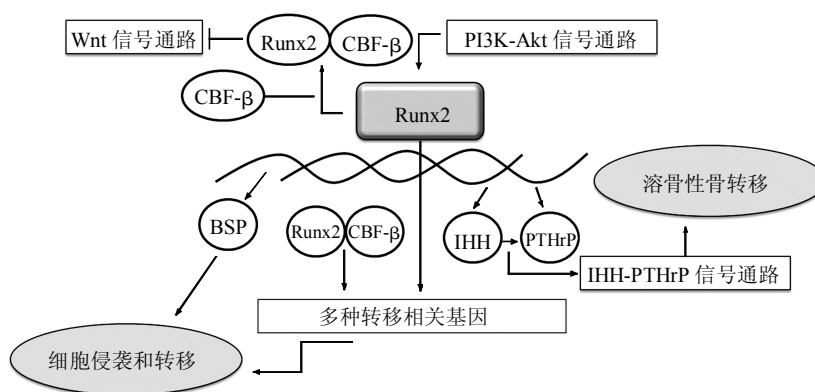


Fig. 2 Runx2 regulate gene expression involved in intracellular signaling pathways^[16-21]

图 2 Runx2 调控基因表达参与细胞内信号通路^[16-21]

1.3 雌激素(E₂)、雌激素受体(ER)与 Runx2 相互作用调控乳腺癌的发生发展

Runx2 在乳腺癌发展中起到重要作用, 特别是在 ER 阴性肿瘤中, 并且 ER 激动剂直接驱动对雌激素敏感的反应元件的基因表达, 同时也能够激活

成骨细胞转录因子 Runx2^[22]. 在乳腺癌的发展中雌激素及其受体更多地起到刺激癌细胞生长的作用, 而 Runx2 是调控细胞分化的重要调节基因, Runx2 在一定程度上可以解除雌激素及其受体在乳腺癌发展中的调控作用.

1.3.1 雌激素与 Runx2 以两种不同的途径诱导乳腺癌的恶化. 在乳腺癌发展中, 低浓度的雌激素(E2)与雌激素受体(ER)结合, 激活细胞增殖信号通路、破坏细胞凋亡以及 DNA 修复途径, 导致乳腺癌的恶化^[23]. 对于乳腺癌的传统治疗, 常运用选择性雌激素受体调节剂与雌激素共同竞争结合雌激素受体来抑制癌细胞增殖^[24]. 而在乳腺癌中常发现 Runx2 与雌激素对乳腺癌的增殖所起到的作用是相反的^[25-26]. 体外实验研究表明, 雌激素可以抑制 Runx2 引起的上皮细胞-间质细胞转换以及癌细胞侵袭力. Runx2 可以刺激与上皮细胞-间质细胞转换和癌细胞侵袭能力相关的 SNAIL2 基因表达, 而 SNAIL2 基因的表达又与 ER- α 成负相关. 同时在骨亲性的乳腺癌肿瘤细胞中同样发现一些与转移相关的基因可以被 Runx2 激活、被 E2 抑制. 在乳腺癌的恶化过程中, Runx2 在一定程度上可以解除雌激素对于乳腺癌的调控作用, 从而诱导乳腺癌骨转移性恶化^[27]. 综上所述, 雌激素主要促进乳腺癌的增殖, 而 Runx2 则调控乳腺癌的分化与转移, 雌激素与 Runx2 在乳腺癌的发生发展过程中所起到的调控作用往往是相反的.

1.3.2 Runx2 与雌激素受体表达负相关.

与正常乳腺细胞相比, Runx2 在乳腺癌细胞中高表达, 并且随着乳腺癌的恶性程度升高其表达量也随之显著升高, 而在恶性程度较高的乳腺癌细胞中也常出现雌激素受体表达量减少或者缺失的状况, 所以在一些乳腺癌细胞中常出现 Runx2 过表达而雌激素受体低表达的情况^[28]. 提示我们, Runx2 与雌激素受体在乳腺癌中的表达量成负相关. 而这种表达的负相关性可能是由于两种因子在乳腺癌细胞中存在相互调节的作用.

Lambertini 等^[29]研究表明, Runx2 在人类成骨细胞中可以与 ER- α 的 F 启动子结合, 降低 ER- α 表达. 与此同时在乳腺癌实体瘤和乳腺癌细胞中, Runx2 表达量同样与 ER 表达量成负相关, 并且 Runx2 还可以抑制 ER- β mRNA 的表达^[30]. Runx2 在乳腺上皮细胞生长和分化中起到关键作用, 并且 Runx2 能与 ER- α 基因相结合, 因此在乳腺上皮细胞中 ER- α 也可作为 Runx2 所调控的靶基因^[31]. 说明在乳腺上皮细胞、乳腺癌细胞以及乳腺癌组织中均存在 Runx2 对雌激素受体的表达及活性的调控作用, 提示我们, Runx2 对乳腺癌的调控机制可能是通过调节雌激素受体的表达及活性进而调控雌激素受体介导的相关信号通路实现的.

2 Runx2 可作为乳腺癌治疗的新靶点

乳腺癌是女性群体中多发的一种疾病, 严重威胁着女性健康, 有研究表明该病发病率呈逐年上升态势. 多年来, 人们一直致力于乳腺癌发生发展机制的研究, 希望找到乳腺癌治疗的靶点, 从而攻克这一国际难题. 但是以往对于乳腺癌所进行的基因水平的研究主要是对患者基因异常表达的分析^[32], 但对该基因异常表达的根本调控因素仍不明确.

Runx2 作为成骨细胞转录因子参与成骨细胞的分化与骨组织的发育, 近年来其在癌症骨转移方面的作用也逐渐为人们所知, 并且 Runx2 在乳腺癌中参与的调控作用更是研究乳腺癌发生发展机制的热点. 随着医学技术的日益进步, 癌症治疗中运用基因沉默技术靶向调控基因的表达从而影响机体生理变化, 因其具有特异性强、安全以及高效等特点日益受到人们的重视^[33]. 并且有研究表明, 在乳腺癌治疗中, 对于 Runx2 基因进行靶向基因沉默, 可以有效地抑制癌细胞迁移并减少溶骨性病变的发生^[34]. 综上所述, 转录因子 Runx2 在乳腺癌中具有促进癌症发展以及诱导骨转移发生等非常复杂的调控作用, 并且 Runx2 参与多条癌症相关信号通路的同时还与雌激素受体存在相互作用关系, 在一定程度上对雌激素受体介导的乳腺癌细胞中的信号转导通路具有间接调控作用. 相信在未来的医学技术发展中, Runx2 必然会成为乳腺癌治疗的新靶点.

参 考 文 献

- [1] Chuang L S, Ito K, Ito Y. RUNX family: Regulation and diversification of roles through interacting proteins. *Int J Cancer*, 2013, **132**(6): 1260-1271
- [2] Markova E N, Petrova N V, Razin S V, *et al.* Transcription factor RUNX1. *Mol Biol (Mosk)*, 2012, **46**(6): 846-859
- [3] Lau Q C, Raja E, Salto-Tellez M, *et al.* RUNX3 is frequently inactivated by dual mechanisms of protein mislocalization and promoter hypermethylation in breast cancer. *Cancer Res*, 2006, **66**(13): 6512-6520
- [4] Dalle Carbonare L, Innamorati G, Valenti M T. Transcription factor Runx2 and its application to bone tissue engineering. *Stem Cell Reviews*, 2012, **8**(3): 891-897
- [5] Ueta C, Iwamoto M, Kanatani N, *et al.* Skeletal malformations caused by overexpression of Cbfa1 or its dominant negative form in chondrocytes. *J Cell Biol*, 2001, **153**(1): 87-100
- [6] Maeno T, Moriishi T, Yoshida C A, *et al.* Early onset of Runx2 expression caused craniosynostosis, ectopic bone formation, and limb defects. *Bone*, 2011, **49**(4): 673-682
- [7] Pratap J, Lian J B, Javed A, *et al.* Regulatory roles of Runx2 in

- metastatic tumor and cancer cell interactions with bone. *Cancer Metastasis Rev*, 2006, **25**(4): 589–600
- [8] Rosa Mendoza E S, Moreno E, Caguioa P B. Predictors of early distant metastasis in women with breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013, **139**(4): 645–652
- [9] Pratap J, Imbalzano K M, Underwood J M, *et al.* Ectopic runx2 expression in mammary epithelial cells disrupts formation of normal acini structure: implications for breast cancer progression. *Cancer Res*, 2009, **69**(17): 6807–6814
- [10] Chen Y C, Sosnoski D M, Mastro A M. Breast cancer metastasis to the bone: mechanisms of bone loss. *Breast Cancer Res*, 2010, **12**(6): 215
- [11] Chappard D, Bouvard B, Baslé M F, *et al.* Bone metastasis: histological changes and pathophysiological mechanisms in osteolytic or osteosclerotic localizations. A review. *Morphologie*, 2011, **95**(309): 65–75
- [12] Barnes G L, Hebert K E, Kamal M, *et al.* Fidelity of Runx2 activity in breast cancer cells is required for the generation of metastases-associated osteolytic disease. *Cancer Res*, 2004, **64**(13): 4506–4513
- [13] Pratap J, Javed A, Languino L R, *et al.* The Runx2 osteogenic transcription factor regulates matrix metalloproteinase 9 in bone metastatic cancer cells and controls cell invasion. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(19): 8581–8591
- [14] Javed A, Barnes G L, Pratap J, *et al.* Impaired intranuclear trafficking of Runx2 (AML3/CBFA1) transcription factors in breast cancer cells inhibits osteolysis *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(5): 1454–1459
- [15] Feng S, Wang Y, Wang X, *et al.* Caveolin-1 gene silencing promotes the activation of PI3K/AKT dependent on ER- α 36 and the transformation of MCF10ACE. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(5): 598–605
- [16] Pande S, Browne G, Padmanabhan S, *et al.* Oncogenic cooperation between PI3K/Akt signaling and transcription factor Runx2 promotes the invasive properties of metastatic breast cancer cells. *J Cell Physiol*, 2013, **228**(8): 1784–1792
- [17] 王 丽, 王 捷, 杨德猛, 等. 骨唾液酸蛋白基因沉默抑制乳腺癌细胞与骨基质粘附. *生物工程学报*, 2011, **27**(2): 233–239
- Wang L, Wang J, Yang D, *et al.* *Chin J Biotechnol*, 2011, **27**(2): 233–239
- [18] Barnes G L, Javed A, Waller S M, *et al.* Osteoblast-related transcription factors Runx2 (Cbfa1/AML3) and MSX2 mediate the expression of bone sialoprotein in human metastatic breast cancer cells. *Cancer Res*, 2003, **63**(10): 2631–2637
- [19] Mendoza-Villanueva D, Deng W, Lopez-Camacho C, *et al.* The Runx transcriptional co-activator, CBFbeta, is essential for invasion of breast cancer cells. *Mol Cancer*, 2010, **9**: 171
- [20] Mendoza-Villanueva D, Zeef L, Shore P. Metastatic breast cancer cells inhibit osteoblast differentiation through the Runx2/CBFB β -dependent expression of the Wnt antagonist, sclerostin. *Breast Cancer Res*, 2011, **13**(5): R106
- [21] Pratap J, Wixted J J, Gaur T, *et al.* Runx2 transcriptional activation of Indian Hedgehog and a downstream bone metastatic pathway in breast cancer cells. *Cancer Res*, 2008, **68**(19): 7795–7802
- [22] McCarthy T L, Chang W Z, Liu Y, *et al.* Runx2 integrates estrogen activity in osteoblasts. *J Biol Chem*, 2003, **278**(44): 43121–43129
- [23] Burns K A, Korach K S. Estrogen receptors and human disease. *Arch Toxicol*, 2012, **86**(10): 1491–1504
- [24] Cuzick J, Sestak I, Bonanni B, *et al.* Selective oestrogen receptor modulators in prevention of breast cancer: an updated meta-analysis of individual participant data. *Lancet*, 2013, **381**(9880): 1827–1834
- [25] Ching N O, Baniwal S K, Luo J, *et al.* Opposing effects of Runx2 and estradiol on breast cancer cell proliferation: *in vitro* identification of reciprocally regulated gene signature related to clinical letrozole responsiveness. *Clin Cancer Res*, 2012, **18**(3): 901–911
- [26] Matsumoto Y, Otsuka F, Takano M, *et al.* Estrogen and glucocorticoid regulate osteoblast differentiation through the interaction of bone morphogenetic protein-2 and tumor necrosis factor- α in C₂C₁₂ cells. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, **325**(1–2): 118–127
- [27] Ching N O, Baniwal S K, Little G H, *et al.* Regulation of breast cancer metastasis by Runx2 and estrogen signaling: the role of SNAI2. *Breast Cancer Res*, 2011, **13**(6): R127
- [28] Onodera Y, Miki Y, Suzuki T, *et al.* Runx2 in human breast carcinoma: its potential roles in cancer progression. *Cancer Sci*, 2010, **101**(12): 2670–2675
- [29] Lambertini E, Penolazzi L, Tavanti E, *et al.* Human estrogen receptor alpha gene is a target of Runx2 transcription factor in osteoblasts. *Exp Cell Res*, 2007, **313**(8): 1548–1560
- [30] Das K, Leong D T, Gupta A, *et al.* Positive association between nuclear Runx2 and oestrogen-progesterone receptor gene expression characterises a biological subtype of breast cancer. *Eur J Cancer*, 2009, **45**(13): 2239–2248
- [31] Khalid O, Baniwal S K, Purcell D J, *et al.* Modulation of Runx2 activity by estrogen receptor- α : implications for osteoporosis and breast cancer. *Endocrinology*, 2008, **149**(12): 5984–5995
- [32] Volinia S, Croce C M. Prognostic microRNA/mRNA signature from the integrated analysis of patients with invasive breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(18): 7413–7417
- [33] Goldberg M S. siRNA Delivery for the treatment of ovarian cancer. *Methods*. 2013 Feb 10. pii: S1046-2023(13)00018-2
- [34] Reufsteck C, Lifshitz-Shoval R, Zepp M, *et al.* Silencing of skeletal metastasis-associated genes impairs migration of breast cancer cells and reduces osteolytic bone lesions. *Clin Exp Metastasis*, 2012, **29**(5): 441–456

Runx2 and Breast Cancer*

FU Xiao-Zhen^{1,2)}, LI Hong-Yan^{1,2)}, ZHANG Ye-Jun^{1,2)}, QU Chao^{1,2)},
ZHONG Guang-Ying^{1,2)}, LIU Jing³⁾, ZOU Wei^{1,2)**}

⁽¹⁾ Liaoning Normal University, College of Life Science, Dalian 116081, China;

²⁾ Liaoning Key Laboratories of Biotechnology and Molecular Drug Research and Development, Dalian 116081, China;

³⁾ Centre for Regenerative Medicine, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, China)

Abstract Runx2 is an osteoblast-specific transcription factor, which regulates osteoblast differentiation and bone formation. In breast cancer, Runx2 activates expression of bone matrix and adhesion proteins, matrix metalloproteinase and angiogenic factors that has long been associated with metastasis. Runx2 forms co-regulatory complexes with some co-activator and co-repressor proteins that are organized in subnuclear domains to regulate gene transcription and mediates the responses of cells to signaling pathways activate in breast tumors. In addition, Runx2 could also interact with the estrogen receptors in some extent to discharge the effect of estrogen and its receptors on the development of breast cancer. This article mainly summarizes Runx2's roles in breast carcinoma and its interaction with estrogen receptors.

Key words Runx2, breast cancer, bone metastasis, signaling pathway, estrogen receptors(ER)

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00141

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30970353, 30570225) and The National Science and Technology Cooperation Project of Ministry of Science and Technology (2010DFR30850).

**Corresponding author.

Tel: 86-411-82857080, E-mail: weizou60@hotmail.com

Received: April 24, 2013 Accepted: August 14, 2013