

PCSK9在乳腺癌肿瘤微环境中作用的研究进展

慕玉东¹, 贺林¹, 张涛²

¹陕西省肿瘤医院检验科, 陕西 西安

²西安市中心医院心内科, 陕西 西安

收稿日期: 2022年12月14日; 录用日期: 2023年3月3日; 发布日期: 2023年3月10日

摘要

乳腺癌已升至全球癌症新发病例数的首位, 成为了女性恶性肿瘤死亡的主要原因。乳腺癌的发生发展是多种因素共同作用的结果, 其病理机制复杂。随着研究深入, 肿瘤微环境(TME)与乳腺癌发病的关系受到越来越多研究者的关注。TME由多种细胞成分和细胞外基质共同组成, 已证明与乳腺癌的发生、发展和预后密切相关。前蛋白转化酶枯草溶菌素9 (PCSK9)是一种新的前蛋白转换酶, 其通过降解低密度脂蛋白受体影响LDL的代谢, 是治疗心血管疾病的有效靶点。近几年研究发现PCSK9过表达还可引起细胞周期、凋亡、炎症及应激反应等多条通路失调, 与肿瘤微环境密切相关。因此, 对于PCSK9在乳腺癌肿瘤微环境中作用的深入了解有助于建立基于TME的靶向治疗策略和治疗新靶点。本文旨在探讨PCSK9在乳腺癌肿瘤微环境中的作用机制。

关键词

PCSK9, 乳腺癌, 肿瘤微环境

Research Progress of PCSK9 Function in Tumor Microenvironment of Breast Cancer

Yudong Mu¹, Lin He¹, Tao Zhang²

¹Department of Clinical Laboratory, Tumor Hospital of Shaanxi Province, Xi'an Shaanxi

²Department of Cardiology, Xi'an Central Hospital, Xi'an Shaanxi

Received: Dec. 14th, 2022; accepted: Mar. 3rd, 2023; published: Mar. 10th, 2023

Abstract

Breast cancer has ranked as the most common cancer by incidence worldwide, and becomes the leading cause of malignant cancer death among women. Numerous factors are involved in the tumorigenesis and development of breast cancer, and its pathological mechanism is quite compli-

cated. With the deepening of research, the relationship between tumor microenvironment (TME) and breast cancer has drawn increasing attention. TME is composed of cellular components and extracellular matrix, and has been proved to be closely related to the occurrence, progression, prognosis of breast cancer. Proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) is a new proprotein converting enzyme, whose function is to degrade low density lipoprotein receptor to affect LDL metabolism, which has been proved to be an effective target for the treatment of cardiovascular diseases. In recent years, overexpression of PCSK9 can also cause dysregulation of multiple pathways such as cell cycle, apoptosis, inflammation and stress response, which is closely related to TME. Therefore, an in-depth study of PCSK9 in microenvironment of the breast cancer is essential for developing new TME-targeted strategies and new therapeutic targets. In this review, we summarized the mechanism of PCSK9 in the TME of breast cancer.

Keywords

PCSK9, Breast Cancer, TME

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一。根据统计, 2018 年全球女性乳腺癌新发病例达 210 万, 占全部女性恶性肿瘤发病的 25%, 且均呈上升趋势, 居女性恶性肿瘤的首位[1]。在我国, 由于人口基数大, 中国女性乳腺癌发病人数及死亡人数均居世界首位, 分别占全球女性乳腺癌发病和死亡人数的 17.6%和 15.6% [2] [3]。大约每 33 位女性中就会有 1 位在其一生中会被诊断出患有乳腺原位癌[4]。乳腺癌的死亡率得到了一定的控制, 患者的生存期也得以延长, 但是居高不下的发病率以及乳腺原位癌诊断及治疗的不确定性, 全球每年新发乳腺癌病例约 167.1 万, 每年约 52.2 万死于乳腺癌, 乳腺癌的疾病负担日趋加重, 已成为全球重点公共卫生问题[5] [6]。

近年来发现在乳腺肿瘤的发生、发展过程中肿瘤微环境起到了重要的作用[7], 它与肿瘤患者的生存及预后密切相关, 肿瘤微环境也成为研究的热点。肿瘤微环境是指由肿瘤细胞、巨噬细胞、内皮细胞、脂肪细胞及免疫细胞和细胞外基质等共同构成的, 与肿瘤的发生、增殖、转移有着重要的关系[8]。因此, 针对肿瘤微环境的研究成为今后乳腺癌治疗的一个重要方面。

前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (proprotein convertase subtilisin kexin 9, PCSK9)是前蛋白转化酶家族的第 9 个成员, 主要由肝脏分泌, 在肝、肾脏、小肠、脑等组织中表达。PCSK9 通过调控低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR)来调节低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C), 其机制是与肝细胞表面 LDL-R 结合, 将 LDL-R 导向溶酶体进行降解, 导致肝细胞表面的 LDL-R 受体减少, 减少了 LDL-C 的吸收, 升高了血液 LDL-C 水平[9]。PCSK9 除了在维持胆固醇稳定中的作用外, 也参与了多种生物过程。PCSK9 过表达可引起细胞周期、凋亡、炎症及应激反应等多条通路失调, 肿瘤的发生发展涉及细胞周期的紊乱、增殖、凋亡等一系列生物效应, 因此 PCSK9 在肿瘤的发生、发展中起到一定的作用[10]。本文对近年来 PCSK9 在乳腺癌肿瘤微环境中作用机制的研究进展进行简要综述。

2. 肿瘤相关巨噬细胞

炎症是肿瘤微环境的重要组成部分, 与肿瘤发生发展密切相关。炎症主要以免疫细胞浸润(包括单核

巨噬细胞、淋巴细胞和浆细胞),组织破坏,纤维化和血管生成等为主要特征。炎症反复迁延可诱发癌变,甚至显著促进恶性进展[11]。在肿瘤进展后期,炎症反应相关因子表达的增加亦可促进肿瘤扩散和转移[12]。巨噬细胞在肿瘤发生发展中的亚型包括经典活化的 M1 型和替代活化的 M2 型。M1 巨噬细胞具有促炎性,有很强的杀伤细菌和肿瘤细胞的能力。M2 型巨噬细胞具有免疫抑制能力,参与组织修复、基质重塑和血管生成。肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAMs)是乳腺癌组织中浸润的免疫细胞的主要组成部分(约占 50%),大部分 TAMs 表现为替代活化的 M2 型细胞性能,促进肿瘤的发展[13]。Zhou 等人用巨噬细胞和人体乳腺癌细胞系 MCF-7 进行共培养,结果发现 TAMs 通过分泌大量 IL-6 使 STAT3 磷酸化调节下游靶基因的转录,激活肿瘤干细胞,从而促进肿瘤生长和转移[14]。

2010 年研究人员通过基因微阵列分析研究证实 PCSK9 除影响脂质代谢外,还参与炎症、应激、蛋白泛素化,异生代谢和细胞周期。进一步发现 PCSK9 通过其下游基因调控炎症相关基因,其机制是 PCSK9 成圆柱状结构,由 3 个亚结构域 SD1、SD2、SD3 组成,其空间结构内部对称折叠,分为 1 个 6 链反向平行 β 折叠,每个 β 折叠含有 3 个二硫键,整个结构含有 9 个二硫键,分别定位链 1 和链 6 中的氨基酸 457-527、氨基酸 534-601、氨基酸 608-679,链 2 号链 6 中氨基酸 477-526、氨基酸 552-600、氨基酸 626-678,链 3 和链 5 中氨基酸 486-509、氨基酸 562-588、氨基酸 635-654。SD1、SD3 β 折叠含 6 条链,其中链 4 包绕链 5 形成亚结构域,链 3 参与邻近结构域的构成。SD2 β 折叠含 5 条链,其中链 6 因受到氨基酸 572-584 中 3 个脯氨酸抑制而缺失,造成 SD2、SD3 表面形成 1 个空穴,并被 SD3 的 1 个螺旋部分填充,因而 PCSK9 与炎症因子的抵抗素结构相似[15] [16]。研究发现,PCSK9 与巨噬细胞的凋亡具有相关性,oxLDL 能促使巨噬细胞泡沫化,过量的脂质蓄积使得细胞凋亡,随着 oxLDL 浓度的升高,细胞凋亡率增加,PCSK9 的表达随之增加[17]。还有研究发现,在一定浓度和时间范围内,随 oxLDL 浓度和时间的增加,Bax 蛋白表达上调,而 Bcl-2 蛋白表达下调,THP-1 源性巨噬细胞转染一定浓度的 PCSK9 siRNA 后再用 oxLDL 处理组,与直接用 oxLDL 处理组相比,Bax 蛋白表达明显下调,Bcl-2 蛋白表达上调,以上结果提示:PCSK9 是 oxLDL 诱导的巨噬细胞凋亡的重要正向调节基因,抑制 PCSK9 表达可以抑制 oxLDL 诱导的巨噬细胞凋亡,其机制与下调促凋亡蛋白 Bax 表达,上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达有关[18]。

3. 脂肪细胞

20 世纪初,研究人员发现在肿瘤的切片中存在“脂肪性”的晶体,将胆固醇和癌症联系起来。胆固醇是许多活性固醇的代谢前体,也是脂质双分子中脂筏结构的关键组分,脂筏含有膜相关的信号转导蛋白,如酪氨酸激酶受体;胆固醇通过调节脂筏结构,影响信号转导通路。已经证实脂筏中胆固醇的积累会减少细胞凋亡、活化蛋白激酶 B (Akt)、促进肿瘤细胞的生长,认为血脂与许多肿瘤的发生与发展密切相关[19] [20]。

有研究提出 PCSK9 在转录后驱动肠细胞合成甘油三酯和载脂蛋白 B,并发现 PCSK9 可以刺激胆固醇调节元件结合蛋白 1 脂肪酸/甘油三酯生物合成途径中靶基因的表达,从而增加肠细胞中间密度脂蛋白的合成,因此这 PCSK9 可以促进细胞内甘油三酯的合成[21]。还有研究提出血浆 PCSK9 和甘油三酯水平之间存在正相关,PCSK9 通过消耗 LDLR 而阻止中间密度脂蛋白和乳糜微粒残余物的代谢从而升高甘油三酯,还有可能通过对其他 LDLR 样受体,如 CD36、VLDL 受体的降解来升高甘油三酯[22]。

正常乳腺组织含有丰富类型的脂肪细胞,脂肪细胞的脂核主要是甘油三酯,其参与重要能源供应和内分泌过程。脂肪细胞能够分泌激素、生长因子和细胞因子,这些因子被称为脂肪因子,在乳腺导管形成的过程中有着重要作用[23]。有研究人员将人类和小鼠乳腺肿瘤细胞分别与成熟脂肪细胞共同培养后,研究发现肿瘤细胞在体内外均表现出增强的侵袭性表型,共培养的脂肪细胞表现出脂含量和晚期脂肪标记物减少,其原因可能与一些蛋白酶的过表达有关,包括 MMP-11、趋化因子配体-2、促炎细胞因子(IL-6

和 IL-1)、瘦素以及脂联素, 这些蛋白酶与肿瘤细胞的增殖、血管生成、扩散、侵袭及转移有关系[24]。

4. 肿瘤相关成纤维细胞

肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, TAFs)是肿瘤微环境中最主要的基质细胞, 一方面其产生的 ATP 和代谢中间体可被邻近的癌细胞所摄取后直接供能或转化重新用于 ATP 合成; 另一方面通过分泌生长因子、细胞因子以及趋化因子等对肿瘤细胞和肿瘤微环境进行调控[25]。肿瘤相关成纤维细胞通过直接作用或旁分泌的方式影响免疫细胞功能或减少免疫细胞与癌细胞的物理接触, 以降低机体免疫系统对癌细胞的识别和杀伤, 这是促进肿瘤免疫逃逸的重要环节[26]。

乳腺癌中正常的成纤维细胞受肿瘤影响活化后形成肿瘤相关成纤维细胞(CAFs)是肿瘤微环境中最大的基质细胞, 也是肿瘤间质中最主要的细胞, 并分泌多种生长因子、细胞因子。在乳腺肿瘤组织中, Tyan 等人[27]研究发现癌细胞可以经细胞旁途径刺激成纤维细胞中肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的分泌, 从而促进癌细胞本身的生长和转移。Suh 等人[28]通过实验发现 CAFs 通过旁分泌成纤维表皮生长因子 2 (fibroblast growth factor-2, FGF2)作用于雌激素受体阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 上 FGF 受体 1 (FGFR1), 促进癌细胞的增殖、迁移与侵袭。癌细胞的上皮间充质化是肿瘤转移过程中的关键步骤, 而 CAFs 被证实可以分泌 IL3、EGF 等因子, 激活下游 p38MAPK、Wnt 通路, 诱导乳腺癌细胞间充质样改变、干细胞化以及侵袭; 同时, 肿瘤相关成纤维细胞还参与了肿瘤微环境构建。靳天慧[29]等人在对主动脉内皮细胞敲低 PCSK9 后采用实时荧光和蛋白印迹的方法, 研究发现 PCSK9 敲低后成纤维细胞特异性蛋白、平滑肌肌动蛋白的表达下调, 说明 PCSK9 可以影响成纤维细胞生物功能。

5. 展望

综上所述, 肿瘤微环境作为乳腺癌细胞赖以生存的“土壤”, 在肿瘤的发生发展中起到重要作用。肿瘤微环境是一个复杂的共生系统, 肿瘤的不同阶段, 其肿瘤微环境中细胞的表型和功能都会发生动态变化。PCSK9 可引起细胞周期、凋亡、炎症及应激反应等多条通路失调, 肿瘤的发生发展涉及细胞周期的紊乱、增殖、凋亡等过程。因此, 深入研究 PCSK9 在乳腺肿瘤微环境的作用, 可为乳腺癌的治疗提供新思路和新靶点, 对乳腺癌的治疗取得更大的突破有重要的意义。

基金项目

西安市创新能力强基计划项目(编号: 21YXYJ0103)。

参考文献

- [1] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., *et al.* (2018) Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **68**, 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [2] World Health Organization (2020) Global Cancer Observatory (GCO): Cancer Today. <http://gco.iarc.fr/today/home>
- [3] Chen, W., Zheng, R., Baade, P.D., *et al.* (2016) Cancer Statistics in China, 2015. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **66**, 115-132. <https://doi.org/10.3322/caac.21338>
- [4] Ward, E.M., DeSantis, C.E., Lin, C.C., *et al.* (2015) Cancer Statistics: Breast Cancer in Situ. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **65**, 481-495. <https://doi.org/10.3322/caac.21321>
- [5] 陈万青, 郑荣寿. 中国女性乳腺癌发病死亡和生存状况[J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(13): 668-674.
- [6] Morrow, M., Schnitt, S. and Norton, L. (2015) Current Management of Lesions Associated with an Increased Risk of Breast Cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **12**, 227-238. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2015.8>
- [7] Maller, O., Martinson, H. and Schedin, P. (2010) Extracellular Matrix Composition Reveals Complex and Dynamic Stromal-Epithelial Interactions in the Mammary Gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, **15**,

- 301-318. <https://doi.org/10.1007/s10911-010-9189-6>
- [8] Noël, A., Gilles, C. and Foidan, J.-M. (2011) Invasion and Metastatic Dissemination in Breast Cancer: Mechanisms. *Revue Médicale de Liège*, **66**, 274-278.
- [9] Maxime, D., Jadwiga, M.W., Ahmed, Z., *et al.* (2012) Gene Inactivation of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Reduces Atherosclerosis in Mice. *Circulation*, **125**, 894-901. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.057406>
- [10] Liu, X., Bao, X., Hu, M., *et al.* (2020) Inhibition of PCSK9 Potentiates Immune Checkpoint Therapy for Cancer. *Nature*, **588**, 693-698. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2911-7>
- [11] Beyaert, R., Beaugerie, L., Van Assche, G., *et al.* (2013) Cancer Risk in Immune-Mediated Inflammatory Diseases (IMiD). *Molecular Cancer*, **12**, Article No. 98. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-12-98>
- [12] Iuima, J., Konno, K. and Itano, N. (2011) Inflammatory Alterations of the Extracellular Matrix in the Tumor Microenvironment. *Cancers*, **3**, 3189-3205. <https://doi.org/10.3390/cancers3033189>
- [13] Tarin, D. (2012) Clinical and Biological Implications of the Tumor Microenvironment. *Cancer Microenvironment*, **5**, 95-112. <https://doi.org/10.1007/s12307-012-0099-6>
- [14] Zhou, N., Zhang, Y., Zhang, X., *et al.* (2015) Exposure of Tumor-Associated Macrophages to Apoptotic MCF-7 Cells Promotes Breast Cancer Growth and Metastasis. *International Journal of Molecular Sciences*, **16**, 11966-11982. <https://doi.org/10.3390/ijms160611966>
- [15] Lan, H., Pang, L., Smith, M.M., *et al.* (2010) Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Affects Gene Expression Pathways beyond Cholesterol Metabolism in Liver Cells. *Journal of Cellular Physiology*, **224**, 273-281. <https://doi.org/10.1002/jcp.22130>
- [16] Hampton, E.N., Knuth, M.W., Li, J., *et al.* (2007) The Self-Inhibited Structure of Full-Length PCSK9 at 1.9 Å Reveals Structural Homology with Resistin within the C-Terminal Domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 14604-14609. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703402104>
- [17] 刘录山, 谢闵, 姜志胜, 等. PCSK9siRNA 对 oxLDL 诱导的 THP-1 源性巨噬细胞凋亡的影响[J]. 生物化学与生物物理进展, 2009, 36(3): 323-330.
- [18] 唐志晗, 任重, 武春艳, 等. PCSK9-siRNA 在抗 ox-LDL 诱导的 THP-1 源性巨噬细胞凋亡中对 Bax、Bcl-2 表达的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(1): 29-33.
- [19] Melvin, J.C., Holmberg, L., Rohmann, S., *et al.* (2013) Serum Lipid Profiles and Cancer Risk in the Context of Obesity: Four Meta-Analyses. *Journal of Cancer Epidemiology*, **2013**, Article ID: 823849. <https://doi.org/10.1155/2013/823849>
- [20] Irwin, M.E., Mueller, K.L., Bohin, N., Ge, Y. and Boerner, J.L. (2011) Lipid Raft Localization of EGFR Alters the Response of Cancer Cells to the EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Gefitinib. *Journal of Cellular Physiology*, **226**, 2361-2328. <https://doi.org/10.1002/jcp.22570>
- [21] Rashid, S., Tavori, H., Brown, P.E., *et al.* (2014) Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 Promotes Intestinal Overproduction of Triglyceride-Rich Apolipoprotein B Lipoproteins Through Both Low-Density Lipoprotein Receptor-Dependent and -Independent Mechanisms. *Circulation*, **130**, 431-441. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.006720>
- [22] 李正良, 蔡瑜, 张顺财. PCSK9 对急性胰腺炎局部并发症及不良预后事件的预测价值[J]. 中国临床医学, 2019, 26(3): 413-419.
- [23] Rajala, M.W. and Scherer, P.E. (2003) Minireview: The Adipocyte—At the Crossroads of Energy Homeostasis, Inflammation, and Atherosclerosis. *Endocrinology*, **144**, 3765-3773. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0580>
- [24] Dirat, B., Bochet, L., Dabek, M., *et al.* (2011) Cancer-Associated Adipocytes Exhibit an Activated Phenotype and Contribute to Breast Cancer Invasion. *Cancer Research*, **71**, 2455-2465. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-3323>
- [25] 李学勤, 徐克. 肿瘤相关成纤维细胞促进肿瘤侵袭转移的作用机制[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2019, 35(4): 386-392.
- [26] 李营歌, 姚颀, 宋启斌, 等. 肿瘤免疫治疗不容忽视的微环境: 癌相关成纤维细胞[J]. 肿瘤学杂志, 2018, 24(11): 1060-1064.
- [27] Tyan, S.W., Kuo, W.H., Huang, C.K., *et al.* (2011) Breast Cancer Cells Induce Cancer-Associated Fibroblasts to Secrete Hepato-Cyte Growth Factor to Enhance Breast Tumorigenesis. *PLOS ONE*, **6**, e15313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015313>
- [28] Suh, J., Kim, D.-H., Lee, Y.-H., Jang, J.-H. and Surh, Y.-J. (2020) Fibroblast Growth Factor-2, Derived from Cancer-Associated Fibroblasts, Stimulates Growth and Progression of Human Breast Cancer Cells via FGFR1 Signaling.

Molecular Carcinogenesis, **59**, 1028-1040. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015313>

- [29] 靳天慧, 陈亮, 刘叶红, 等. 敲低前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK9)抑制人主动脉内皮细胞的内皮间质转化[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2021, 37(12): 1079-1084.