

雄激素受体在前列腺癌细胞中作用及其靶向治疗的研究进展*

田 晶 王 娟 综述 牛远杰 审校

摘要 雄激素受体 (androgen receptor, AR) 在前列腺癌的发生发展中扮演重要角色。雄激素剥夺疗法 (androgen deprivation therapy, ADT) 早期可成功抑制肿瘤的生长, 但最终导致肿瘤复发并进入激素抵抗阶段。AR 对前列腺癌基质细胞起促进肿瘤增殖和转移作用, 是上皮腔样细胞的存活因子, 而对肿瘤干细胞样细胞及上皮基底细胞的增殖起抑制作用, AR 在不同类型细胞中的不同作用向当前 ADT 传统的疗法提出挑战, 为发展新的治疗策略提供理论依据。目前以 AR 为靶点的靶向治疗药物研发也取得一些进展。本文就 AR 在前列腺癌不同类型细胞中的作用及靶向治疗方面的进展加以综述。

关键词 前列腺癌 雄激素受体 细胞 雄激素剥夺疗法

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2013.09.014

Research progress on androgen receptor in prostate cancer cells and related targeted therapy

Jing TIAN, Juan WANG, Yuanjie NIU

Correspondence to: Yuanjie NIU; E-mail: niuyuanjie@gmail.com

The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin Institute of Urology, Chawnsang Chang Sex Hormone Research Center, Tianjin 300211, China

This work was supported by the National Nature Science Foundation of China for Young Scholars (Grant No. 81202024)

Abstract Androgen receptors (AR) have an important function in the development and progression of prostate cancer. Androgen deprivation therapy (ADT) is successful in suppressing prostate tumor growth; however, the therapy eventually fails, leading to recurrent tumor growth in a hormone-refractory manner. Recent studies indicate that AR acts as a proliferation stimulator for prostatic stromal cells, whereas epithelial AR functions as a survival factor for luminal cells and a suppressor for tumor stem-like cells and epithelial basal cells proliferation. The varying functions of different AR cell types present a severe challenge for current ADT, but provide important bases for treatment strategies. Significant progress has been achieved in targeted therapy for prostate cancer through AR. This article reviews the research developments in the role of AR in the different types of prostate cancer cells and in targeted therapy.

Keywords: prostate cancer, androgen receptor, cells, androgen deprivation therapy

前列腺癌 (prostate cancer, Pca) 是西方发达国家男性最常见的恶性肿瘤, 为男性癌症患者的第二大死因^[1]。尽管前列腺癌在我国发病率相对较低, 但随着社会老龄化、人们生活水平不断提高及诊断新技术的应用, 目前呈明显上升趋势。流行病学调查发现北京市男性前列腺癌发病率由 2001 年的 5.53/10 万上升至 2010 年的 16.62/10 万, 9 年增长 200.5%, 年均增长 9.2%^[2]。药物及手术去势疗法仍是目前的主要治疗策略, 然而, 雄激素剥夺治疗 (ADT) 最终导致治疗失败, 前列腺癌进展为雄激素非依赖性前列腺癌阶段并伴有骨转移, 具有很高死亡率。雄激素受体 (androgen receptor, AR) 在前列腺癌的发生及进展

中扮演重要角色, 其与雄激素结合后发挥转录因子的作用, 调节大量下游基因的表达。因此, 本文就国内外关于 AR 在不同类型前列腺癌细胞中的作用及靶向治疗进行综述, 为今后选择性的靶向前列腺癌细胞 AR 信号途径提供新思路。

1 雄激素受体的构成及作用机理

AR 是雄激素激活转录因子, 也是核受体超家族成员。人类 AR 由 918 个氨基酸组成, 含有 8 个外显子和 7 个内含子, 分子量为 110 kD。雄激素受体根据不同的 AR 基因外显子编码分为 3 个不同的功能区, 1) N-端区 (N-terminal domain): 由外显 1 编码, 该区域与其他甾体激素的同源性最小, 该区域与 AR 转录激

作者单位: 天津医科大学第二医院, 天津市泌尿外科研究所, 张传祥性激素研究中心 (天津市 300211)

*本文课题受国家自然科学基金青年项目 (编号: 81202024) 资助

通信作者: 牛远杰 niuyuanjie@gmail.com

活有关。2)DNA结合区(DNA-binding domain):由外显子2和3编码,组成两个锌指结构,是DNA结合区,该区域高度保守,由68个氨基酸组成,有利于结合带负电荷的DNA。3)配基结合区(ligand-binding domain)和铰链区,由外显子4~8编码,该区主要作用是与激素结合形成二聚体,促使受体活化及核内转位^[3]。

AR作用机理:血清中的睾酮(testosterone, T)主要由睾丸产生,通常在5 α 还原酶作用下转变为二氢睾酮(DHT)。睾酮与二氢睾酮均能与AR结合并使之激活^[4]。与激素结合的AR,构象发生改变,与热休克蛋白解离,暴露核定位信号,并通过核孔从胞浆进入核中。通过DNA结合区,配体AR与AR反应元件结合,在多种转录因子参与下激活并调控AR的靶基因和靶蛋白,雄激素受体是雄激素作用的中介物质。

2 AR在前列腺癌细胞系中的作用

2.1 LNCaP细胞

LNCaP细胞系来源于人前列腺癌淋巴结转移瘤,具有上皮样肿瘤细胞表型特征表达AR⁺/CK8⁺/CK18⁺/CK5⁻/PSA⁺^[5]。LNCaP属于雄激素敏感性前列腺癌细胞系,A/AR的信号通路是此种细胞生长增殖的必要条件,但受细胞微环境的影响,A/AR信号通路对激素的反应性不同。Zhou等^[6]报告用Casodex抑制LNCaP内源性AR的转录活性导致细胞凋亡。有学者^[7]发现LNCaP细胞长期在无雄激素的培养基中培养,超过81代的传代后获得非激素依赖性的细胞亚系C81,当重新给予雄激素后发现C81细胞的生长受到抑制并促进凋亡。这些发现提示:根据细胞生存环境不同,AR可能促进或抑制细胞增殖,或充当LNCaP细胞的生存因子。

2.2 PC346C细胞

PC346C细胞系来源于人类原发性前列腺癌组织接种于小鼠后获得的移植瘤,属于雄激素依赖性细胞系,表达AR⁺/CK8⁺/CK18⁺/CK5⁻/PSA⁺^[5]。PC346C的增殖需要雄激素的刺激,与临床激素依赖性前列腺癌相似。PC346C经过长期体外去雄激素培养基培养产生3种细胞亚系:PC346DCC中AR和PSA低表达或表达缺失;PC346Flu1中AR过表达,和PC346Flu2中AR突变^[7]。由此显示:AR在源于同一细胞的3种不同细胞亚系中表达水平不同,体外实验用雄激素类似物R1881处理后,细胞对其产生无反应、抑制和促进细胞增殖不同的反应性。3种不同的表型可能是PCa细胞长期适应不同的细胞外基质的微环境产生的结果^[8]。

2.3 Du145细胞

Du145细胞系来源于人前列腺癌的脑转移瘤,属于非雄激素敏感性细胞系,表达AR⁺/CK8⁺/CK18⁺/

CK5⁺。有研究报道^[9]通过稳定转染AR cDNA建立Du145-AR细胞系,对比Du145-AR和Du145-V细胞发现前者增殖率明显降低。当用睾酮处理细胞后发现Du145-AR细胞增殖率和其他特性恢复。这些研究结果表明AR抑制Du145-AR细胞的增殖。还有研究表明AR可以抑制Du145细胞的侵袭和转移能力。

2.4 PC3细胞

PC3细胞系来源于人前列腺癌骨髓转移瘤,属于非雄激素敏感性细胞系。PC3细胞表达AR⁺/CK8⁺/CK18⁺/CK5⁺。然而,PC3是基底样肿瘤细胞,具有很高的成瘤性^[10]。对比研究PC3-v和PC3-AR9发现:DHT不能调节PC3-AR9细胞增殖^[11]。利用小鼠模型检测AR对PC3细胞生长侵袭和转移能力的影响,发现PC3-v比PC3-AR9细胞在裸鼠前列腺原位种植瘤和远处转移瘤都明显增大^[12]。上述研究结果发现AR在PC3-AR细胞中抑制其生长侵袭和转移,与传统概念提出的AR是促进PCa细胞生长和转移的作用是大相径庭的。因此,当研究AR在PCa的作用时,仅仅应用一种细胞系进行研究具有片面性。

3 AR在不同类型前列腺癌细胞中的作用

3.1 AR在前列腺癌腔上皮细胞中的作用

研究发现pes-ARKO-TRAMP鼠模型即前列腺上皮AR特异性敲除的鼠,导致CK8⁺的腔上皮细胞凋亡增加(18%)和CK5⁺/CK8⁺基底中间细胞的比例增高^[12-14]。这些结果提示上皮中的AR的功能可能是作为上皮-基底中间样细胞增殖的抑制因子,在上皮腔细胞中作为生存因子。前列腺癌上皮细胞中的AR信号也影响肿瘤的转移。对比pes-ARKO-TRAMP鼠和TRAMP鼠的淋巴结转移瘤,前者转移瘤更大,转移灶更多。上皮的AR可以作为前列腺癌的抑制因子来抑制肿瘤的侵袭和转移。

3.2 AR在前列腺/前列腺癌干细胞样细胞中的作用

有研究首次从前列腺癌组织中成功分离出肿瘤干细胞,其表面标志为CD44⁺/integrin α 2 β 1^{hi}/CD133⁺,其增殖和分化能力远大于其他前列腺肿瘤细胞,并可在雄激素缺乏条件下存活,到目前为止已有0.1%的前列腺癌细胞被证实是前列腺癌干细胞,由于前列腺癌干细胞是雄激素非依赖性的,存活和增殖不依赖于雄激素^[15-16]。有研究报道从前列腺癌患者的肿瘤组织中利用TRA-1-60⁺CD151⁺CD166⁺分选干细胞群,发现在这群干细胞中,AR阴性表达^[16]。有研究发现用Sca-1在TRAMP小鼠模型中筛选前列腺干细胞群,发现AR阴性表达,同时对雄激素无反应^[17]。该小组近来研究发现同一PCa患者ADT治疗后,肿瘤干细胞群样细胞比例明显增多,利用多种PCa细胞系及小鼠原位模型的研究证实AR抑制前列腺癌干细

细胞的自我更新能力,促进细胞凋亡;而与AR在非干细胞群细胞中的作用相反^[18-19]。本文前期研究发现通过DNA甲基化酶抑制剂5-AZA处理PCa干细胞样细胞,可使AR重新获得表达,促进干细胞向腔细胞方向分化,抑制PCa肿瘤干细胞样细胞的生长和自我更新能力^[20]。

3.3 AR在前列腺癌基质细胞的作用

基质-上皮间的相互作用始终对于肿瘤的进展和转移是重要的。在肿瘤的进展中,基质细胞包括成纤维细胞、肌纤维细胞、内皮细胞和免疫细胞形成了支持肿瘤进展、生存和转移的微环境。利用PC3细胞与人前列腺癌基质细胞WPMY1-v和WPMY1-ARsi(敲除AR)共培养系统,研究基质中的AR在肿瘤转移和进展中的作用。共培养的结果显示与WPMY1-ARsi细胞共培养的PC3细胞比与WPMY1-v细胞共培养的PC3细胞的侵袭性降低。在裸鼠原位种植的PC3细胞与WPMY1-ARsi比PC3细胞与WPMY1-v细胞产生更小的原发肿瘤和盆腔淋巴结转移瘤^[12-13]。总之,这些体内体外实验研究发现,基质中的AR可能作为一种增殖子促进前列腺癌的进展和转移。

4 靶向AR拮抗剂的研究进展

很多研究显示在ADT治疗后,大多数去势抵抗性前列腺癌患者通过各种不同机制调节恢复了AR的转录活性。据法默瑞思公司统计截止2012年在研与上市治疗前列腺癌的药物共526种,其中AR的拮抗剂18种。因此,如何有效的抑制AR的活性,仍是PCa治疗的热点。目前临床应用AR的拮抗剂主要是氟他胺(flutamide):非甾体类雄激素拮抗剂,与雄激素竞争结合AR,导致肿瘤细胞生长抑制,但长期使用损伤肝功能;和比卡鲁胺(Bicalutamide, Casodex):长效的口服非甾体类抗雄激素药物,抑制睾酮转化为双氢睾酮导致减少双氢睾酮与AR结合,从而抑制PCa细胞生长,使肿瘤萎缩。其与AR的亲和力较氟他胺强4倍。这两种药物在治疗早期前列腺癌起重要作用,晚期疗效差,甚至产生抗雄激素戒断综合征^[21],因此对于PCa晚期患者仅可作为辅助用药,但不能明显改善患者生存率。

目前国际学者正在研究开发新型抗雄激素药物,用于治疗去势抵抗性前列腺癌,提高患者生存质量和生存率。美国Sawyers团队以氟他胺为母体结构进行改造发明抗雄激素新药MDV3100,直接干扰AR信号通路,抑制肿瘤生长,目前已进入抗前列腺癌临床Ⅲ期研究^[22]。美国Chang团队以姜黄素为先导化合物,通过结构优化和改造发明新型抗雄激素新药ASC-J9, ASC-J9^[23]通过降解AR抑制AR的转录活

性,导致抑制AR靶基因的生物学效应,可用于选择性抑制AR介导的去势抵抗性前列腺癌细胞生长。

5 展望

随着相关研究的深入开展,AR在前列腺癌的发生和进展中的作用越来越清楚,由于AR在不同类型的前列腺癌细胞中扮演不同的角色,因此选择性阻滞肿瘤细胞中A/AR的信号传导为肿瘤的治疗提供新的思路。随着靶向AR拮抗剂的不断研发和肿瘤生物学的研究,提示AR作为前列腺癌治疗的药物靶点还有一系列未知的挑战与机遇。

参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1):10-29.
- 2 北京市人民政府主编.北京市2011年度卫生与人群健康状况报告[M].北京:人民卫生出版社,2012:24-25.
- 3 Simental JA, Sar M, Lane MV, et al. Transcriptional activation and nuclear targeting signals of the human androgen receptor[J]. J Biol Chem, 1991, 266(1):510-518.
- 4 Schultheiss D. A brief history of testosterone[J]. Urologe A, 2010, 49(1):51-55.
- 5 van Bokhoven A, Varella-Garcia M, Korch C, et al. Molecular characterization of human prostate carcinoma cell lines[J]. Prostate, 2003, 57(3):205-225.
- 6 Zhou J, Richardson M, Reddy V, et al. Structural and functional association of androgen receptor with telomeres in prostate cancer cells[J]. Aging, 2013, 5(1):3-17.
- 7 Igawa T, Lin FF, Lee MS, et al. Establishment and characterization of androgen-independent human prostate cancer LNCaP cell model[J]. Prostate, 2002, 50(4):222-235.
- 8 Marques RB, Dits NF, Erkens-Schulze S, et al. Modulation of androgen receptor signaling in hormonal therapy-resistant prostate cancer cell lines[J]. PLoS One, 2011, 6(8):e23144.
- 9 Marques RB, Erkens-Schulze S, de Ridder CM, et al. Androgen receptor modifications in prostate cancer cells upon long-term androgen ablation and antiandrogen treatment[J]. Int J Cancer, 2005, 117(2):221-229.
- 10 Scaccianoce E, Festuccia C, Dondi D, et al. Characterization of prostate cancer DU145 cells expressing the recombinant androgen receptor[J]. Oncol Res, 2003, 14(2):101-112.
- 11 Kaighn ME, Narayan KS, Ohnuki Y, et al. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3)[J]. Invest Urol, 1979, 17(1):16-23.
- 12 Altuwajiri S, Wu CC, Niu YJ, et al. Expression of human AR cDNA driven by its own promoter results in mild promotion, but not suppression, of growth in human prostate cancer PC-3 cells[J]. Asian J Androl, 2007, 9(2):181-188.
- 13 Niu Y, Altuwajiri S, Lai KP, et al. Androgen receptor is a tumor suppressor and proliferator in prostate cancer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(34):12182-12187.
- 14 Niu Y, Altuwajiri S, Yeh S, et al. Targeting the stromal androgen receptor in primary prostate tumors at earlier stages[J]. Proc Natl Acad Sci, 2008, 105(34):12188-12193.

- 15 Niu Y, Wang J, Shang Z, et al. Increased CK5/CK8-positive intermediate cells with stromal smooth muscle cell atrophy in the mice lacking prostate epithelial androgen receptor[J]. PLoS One, 2011, 6(7):e20202.
- 16 Maitland NJ, Frame FM, Polson ES, et al. Prostate cancer stem cells: do they have a basal or luminal phenotype[J]? Horm Cancer, 2011, 2(1):47-61.
- 17 Rajasekhar VK, Studer L, Gerald W, et al. Tumour-initiating stem-like cells in human prostate cancer exhibit increased NF- κ B signalling[J]. Nat Commun, 2011, 2:162.
- 18 Lee SO, Tian J, Huang CK, et al. Suppressor role of androgen receptor in proliferation of prostate basal epithelial and progenitor cells[J]. J Endocrinol, 2012, 213(2):173-182.
- 19 Lee SO, Ma Z, Yeh CR, et al. New therapy targeting differential androgen receptor signaling in prostate cancer stem/progenitor vs. non-stem/progenitor cells[J]. J Mol Cell Biol, 2013, 5(1):14-26.
- 20 Tian J, Lee SO, Liang L, et al. Targeting the Unique Methylation Pattern of Androgen Receptor (AR) Promoter in Prostate Stem/Progenitor Cells with 5-Aza-2'-deoxycytidine (5-AZA) Leads to Suppressed Prostate Tumorigenesis[J]. J Biol Chem, 2012, 287(47):39954-39966.
- 21 Takeshita H, Kawakami S, Fukui I. Profound bicalutamide withdrawal syndrome in a hormone-refractory T4N1 prostate cancer permitting both salvage radiotherapy and cessation of hormonal therapy[J]. Int J Urol, 2009, 16(3):337-338.
- 22 Tran C, Ouk S, Clegg NJ, et al. Development of a second-generation antiandrogen for treatment of advanced prostate cancer[J]. Science, 2009, 324(5928):787-790.
- 23 Lai KP, Huang CK, Chang YJ, et al. New Therapeutic Approach to Suppress Castration-Resistant Prostate Cancer Using ASC-J9 via Targeting Androgen Receptor in Selective Prostate Cells[J]. Am J Pathol, 2013, 182(2):460-473.

(2013-01-03 收稿)

(2013-04-02 修回)

(本文编辑:周晓颖)

• 读者 • 作者 • 编者 •

勘误

中国肿瘤临床, 2013, 40(6):319-322, 论文“卵巢上皮性癌组织中 DAPK 基因启动子甲基化及其蛋白表达的研究”, 表 4 内 Lymphatic metastasis 部分中, “DAPK methylation Positive 列 16(61.5), 10(34.5), $\chi^2=4.026$, $P=0.045$ ”对应改为“7(26.9), 19(65.5), $\chi^2=8.192$, $P=0.004$ ”, 特此更正!

——《中国肿瘤临床》编辑部