

代谢组学挖掘胆固醇在三阴性乳腺癌中的作用研究进展

李政秀¹, 曾卫强²

(1. 广东医科大学, 广东 湛江 524002;

2. 广东医科大学顺德妇女儿童医院, 广东 佛山 528300)

摘要:近年来通过对三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)分子特征的研究发现其基因和代谢特征与其他类型显著不同,而且 TNBC 本身也由不同的亚型组成, TNBC 的胆固醇合成以及代谢会增强,但不会大量积累胆固醇,而是增加对肿瘤生长有促进作用的代谢产物。全文分析胆固醇合成代谢过程中影响 TNBC 肿瘤微环境的关键分子机制。谷氨酰胺酶抑制剂、PI3K 抑制剂临床前实验已得到良好疗效正在进行临床研究。神经鞘氨醇激酶抑制剂、mTOR 抑制剂、STAT3 抑制剂和 ROR γ 拮抗剂都有可能成为 TNBC 新药研制的基础。总之,针对 TNBC 不同代谢亚型挖掘精准治疗手段非常有希望。

关键词: 三阴性乳腺癌;胆固醇;代谢;精准治疗

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2022)09-0725-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.09.B004

Research Progress on Cholesterol in Triple Negative Breast Cancer Based on Metabonomics

LI Zheng-xiu¹, ZENG Wei-qiang²

(1. Guangdong Medical University, Zhanjiang 524002, China; 2. Shunde Women and Children Hospital of Guangdong Medical University, Foshan 528300, China)

Abstract: Recent studies have revealed that triple negative breast cancer(TNBC) has unique genetic and metabolic characteristics, and the synthesis and metabolism of cholesterol in TNBC are enhanced. However, the large amount of cholesterol synthesized by TNBC cells was not accumulated, but increase metabolites to promote tumor growth. The key molecular mechanisms affecting the microenvironment of TNBC during cholesterol anabolism are summarized in this article. The glutaminase inhibitors and PI3K inhibitors have achieved optimistic results in pre-clinical studies and are now undergoing clinical trials. Schmosine kinase inhibitor, mTOR inhibitor, STAT3 inhibitors and ROR γ antagonists are potential candidates for developing new anti-TNBC drugs. In conclusion, it is very promising to explore precise treatment for different metabolic subtypes of TNBC.

Subject words: triple negative breast cancer; cholesterol; metabolism; accurate treatment

三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)约占全部乳腺癌病例的 15%~20%,且恶性程度高、复发风险大^[1], TNBC 激素受体阴性意味着不能使用内分泌治疗,而 HER2 阴性也不能使用抗 HER2 的靶向治疗。随着学者们对 TNBC 不懈深入研究,基因组学、代谢组学以及免疫学等方向都让人看到精准治疗 TNBC 的巨大潜力。本文主要从代谢组学角度对 TNBC 的研究进行综述。

通信作者:曾卫强, E-mail: 79776481@qq.com

收稿日期: 2022-05-09; 修回日期: 2022-07-11

1 三阴性乳腺癌代谢特征再分类

癌细胞是异常的快速增殖的一种细胞,需要大量的营养和能量供养,所以在代谢特征上会有显著不同。理论上,根据代谢特征选择对应的抑制剂能够获得较好的疗效,而最大的难点就是对乳腺癌患者进行精准的分类。2020 年,复旦大学附属肿瘤医院学者根据代谢特征将 TNBC 分为 3 种代谢途径亚型: MPS1: 脂质代谢上调的脂肪生成亚型; MPS2: 糖酵解亚型,碳水化合物和核苷酸代谢上调; MPS3: 具

有部分通路失调的混合亚型^[2]。并于 2022 年 2 月在 *Cell Res* 更新了研究^[3]把 TNBC 分为 3 个代谢亚组: C1 亚组:以富含神经酰胺和脂肪酸为特征;C2 亚组:以与氧化反应和糖基转移相关的代谢物上调为特征;C3 亚组:代谢与正常乳腺组织差异不大。有趣的是,2020 年研究主要根据代谢基因的表达,研究可以看到胆固醇生物合成相对正常组织明显上调;而 2022 年发表的研究主要根据代谢物丰度,而在这项研究中 TNBC 肿瘤组织中胆固醇并没有明显富集。两项研究的差异更加引起我们对胆固醇的关注与思考,从代谢组学挖掘治疗 TNBC 新靶点非常有希望。

2 代谢组学的治疗潜力

2.1 三阴性乳腺癌细胞代谢组学是有潜力的治疗方向

从分子角度出发确定治疗的靶标可能是未来治疗的方向,目前很多研究针对乳腺癌物质代谢进行。研究发现乳腺癌会出现上调的谷氨酰胺分解,而且最近的基于关键代谢途径的酶抑制剂和同位素标记示踪动态分析证实了 TNBC 不同亚型对谷氨酸-谷氨酰胺的代谢表型不同^[4]。虽然代谢组 C1 亚型和 C2 亚型都与谷氨酸-谷氨酰胺代谢有关,然而 C1 亚型更依赖脂肪酸,而 C2 亚型更依赖谷氨酰胺作为线粒体燃料^[3]。转录组管腔雄激素受体亚型和代谢组 C1 亚型高度重合特点是富含神经酰胺,并且从头合成和降解表现更为活跃,而糖基和磷酸基团的转移相对无显著性上调。致癌基因 *PIK3CA* 会导致花生四烯酸和类花生酸的过量产生,从而促进细胞增殖^[5],磷酸鞘氨醇是神经酰胺途径的重要中间体,所以 PI3K 抑制剂和神经鞘氨醇激酶抑制剂都可能对 C1 亚型有治疗作用^[6]。谷氨酰胺酶抑制剂 CB-839 的临床前实验通过构造异种移植乳腺癌模型的动物实验发现该药对管腔样亚型有效,而对基底样亚型效果不佳^[7]。目前新型谷氨酰胺酶抑制剂正在进行包括 TNBC 在内的多种人类恶性肿瘤临床试验。N-乙酰-天冬氨酸-谷氨酸虽然是一种神经递质,但同时也是重要的促癌代谢物以及向癌细胞提供谷氨酸的储存库^[8]。从 N-乙酰-天冬氨酸-谷氨酸合成与代谢途径中可能发掘 C2 亚型 TNBC 的潜在治疗靶点。尿甘

二磷酸葡萄糖和 GDP-甘露糖这些糖基转移的特异性代谢物在 TNBC 中有显著性增加^[3],研究认为这种 C2 亚组的糖基化失调可能通过影响免疫功能来影响进展^[9]。

虽然胆固醇在 TNBC 肿瘤组织中并没有明显富集,但胆固醇影响 TNBC 与 C1 亚型的脂质代谢异常相关。胆固醇作为多种生理活性物质的原料和细胞膜的重要组成部分,与膜受体密切相关,并且影响很多跨膜信号通路^[10]。总之,癌细胞的代谢组学是研发新型治疗方法和寻找新生物标志物的非常有潜力的方向。

2.2 胆固醇影响三阴性乳腺癌的临床证据

胆固醇代谢对癌症进展的影响体现在细胞增殖、迁移和侵袭^[10-12]。从流行病学角度,在很多癌症患者中发现胆固醇水平发生变化,普遍认为癌细胞需要胆固醇快速增殖并倾向于积累大量胆固醇,依赖于上调的胆固醇生物合成或通过增强胆固醇的摄取^[13];而且在动物实验确实看到上调的胆固醇生物合成^[12]。既往研究表明,他汀类药物在治疗乳腺癌方面也有效^[14]。关于胆固醇和乳腺癌关系的临床研究存在争议。多项荟萃分析不支持胆固醇升高对乳腺癌有促进作用^[15-16]。然而近年来更为严谨的临床前研究和临床证据支持胆固醇升高与乳腺癌风险增加有关^[17-18]。尤其是 2013 年 *Science* 杂志发表的一项临床研究揭示了胆固醇的代谢物 27-羟基胆固醇(27-Hydroxycholesterol, 27-HC)对 ER 阳性乳腺癌的病理作用,确定高胆固醇血症与乳腺癌风险增加之间的关系^[19]。研究发现 27-HC 能够作用于免疫细胞,从而促进乳腺癌进展^[20]。一项调查研究显示, TNBC 患者中高腰围、高血压、高胆固醇血症和糖尿病的绝经后妇女的乳腺癌死亡风险和总体死亡风险显著性升高^[21]。

虽然大量证据认为上调的胆固醇会增加乳腺癌的风险,但以往的研究并没有单独报告 TNBC 与胆固醇之间的关系。相较激素受体阳性乳腺癌, TNBC 显示出更高的胆固醇生物合成,并提出 ROR γ 拮抗剂在 TNBC 动物模型中引起肿瘤消退,且与他汀类药物联用有协同抗肿瘤作用^[22]。

2.3 胆固醇促进三阴性乳腺癌调控机制

在肿瘤微环境中,胆固醇合成代谢通常会增强,从而支持癌症进展,分别体现在以下四个方面^[23]:①增强的胆固醇生物合成;②增加低密度脂蛋白受体对

外源性胆固醇的吸收;③促进胆固醇酯化;④增加氧甾醇的产生。

动物细胞包括癌细胞都可以通过甲羟戊酸途径 (mevalonate pathway, MP) 从头合成胆固醇^[24]。MP 途径中原料为胞质中的乙酰辅酶 A, 其中 HMG-CoA 还原酶 (HMG-CoA reductase, HMGCR) 是胆固醇合成中的主要限速酶。此外, MYC 等原癌基因激活导致 MP 激活并上调 miR-33b 表达, 并通过正反馈增加 MYC 表达^[25], 导致胆固醇合成增加。除了从头合成, 胆固醇更多的是通过低密度脂蛋白受体介导的内吞作用从循环中摄取^[22]。

控制胆固醇稳态的主要调节因子包括甾醇调节元件结合蛋白-2 (SREBP-2)、肝 X 受体 (liver X receptor, LXR)。当胆固醇水平超过当前需求, 细胞有两种方式进行调节: ①LXR 通过激活 ABC 家族蛋白使胆固醇从细胞流出, 包括 ABCA1、ABCG1、ABCG5 和 ABCG8; ②胆固醇在酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 (acyl coenzyme A-cholesterol acyltransferase, ACAT) 酶的作用下将胆固醇和脂肪酸转化为胆固醇酯^[26]。

研究发现 SREBP-2 是受体酪氨酸激酶相关的 RTK/AKT/mTOR 途径或是 RTK/RAS 等致癌途径的下游靶标和效应器^[24, 27-28]。致癌基因通常促进胆固醇上调, 而肿瘤抑制基因具有相反的作用。例如: 野生型抑癌基因 p53 上调胆固醇流出转运蛋白 ABCA1, 并且限制 SREBP-2 成熟和抑制 MP 途径^[29], 而突变型 p53 上调 SREBP-2 靶标, 且通过诱导 miR-33 抑制 ABCA1 表达从而导致细胞内胆固醇积累^[23]。

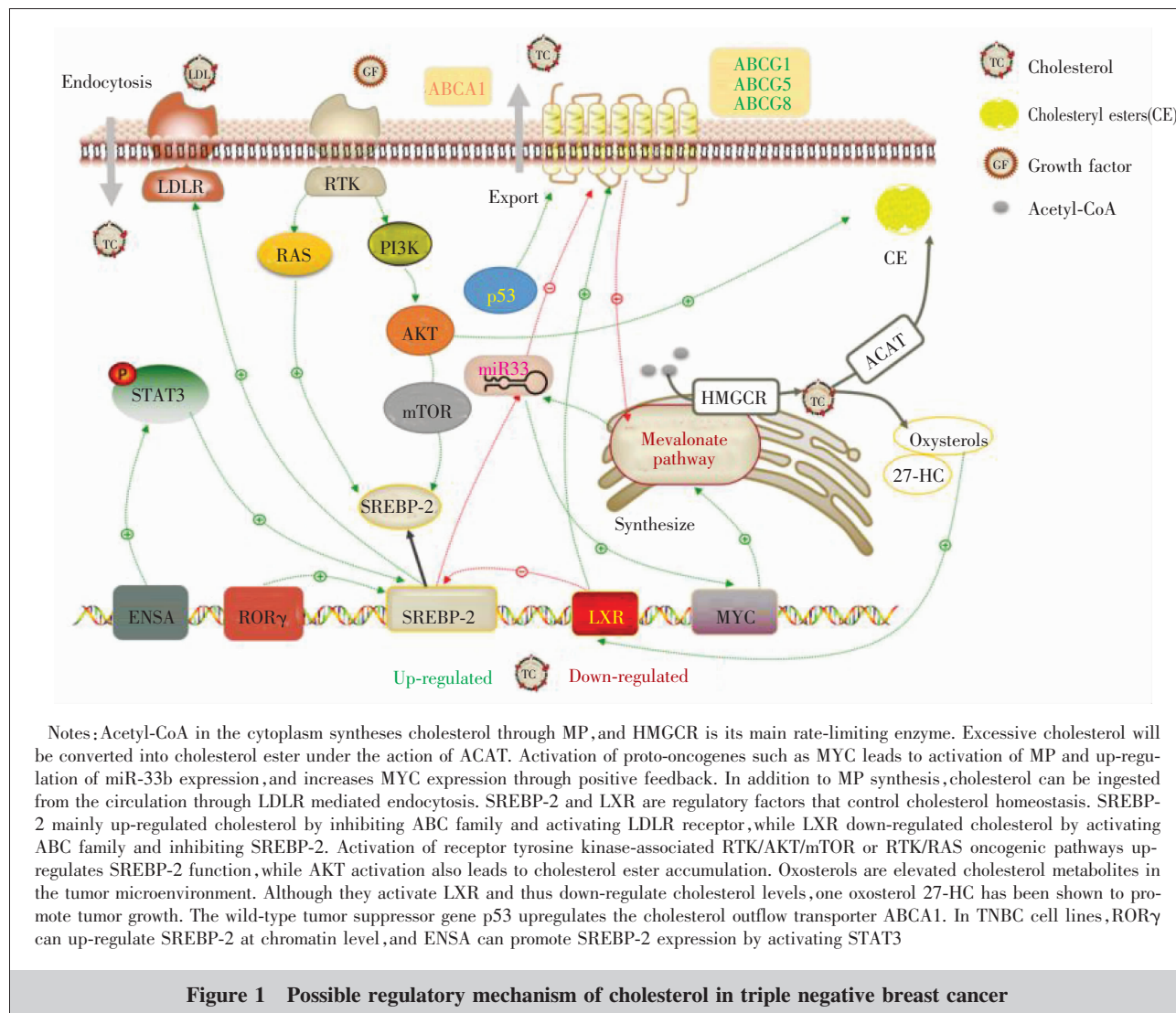
胆固醇酯 CE 的积累是癌症的另一个常见特征, ACAT 酶是转化为胆固醇酯的关键酶, 而 AKT 激活也会导致胆固醇酯积累^[23]。另外, 氧甾醇是一种在肿瘤微环境中升高的胆固醇代谢物^[30], 虽然氧甾醇可以激活 LXR 从而降低胆固醇水平, 但是, 氧甾醇可以作用于免疫细胞从而促进肿瘤进展。而 27-HC 就是一种氧甾醇, 并且已有广泛的研究说明其对癌细胞的影响。在雌激素受体阳性乳腺癌患者中, 27-HC 在乳腺肿瘤中均升高, 27-HC 通过调节 ARMT1 和 PARD6B 等雌激素受体信号基因以及参与 GDFN-RET 信号通路的基因来促进癌细胞增殖。

最近有越来越多 TNBC 代谢相关研究。ROR γ 可以在染色质水平调节 SREBP-2 功能, 激活胆固醇生物合成程序并促进 TNBC 进展^[20]。在 TNBC 细胞

系中, ENSA 可以通过活化 STAT3 从而促进 SREBP-2 的表达^[28]; 而在非 TNBC 细胞系中并没有观察到相同的现象, 说明 ENSA 调节的胆固醇途径在 TNBC 中的关键作用。虽然 LXR 诱导胆固醇流出基因 ABCA1 使胆固醇水平降低, 然而 LXR 活性增高会使 TNBC 耐药性增加^[31-33]。动物模型和临床相关研究显示阿托伐他汀促进转移性 TNBC 的化疗效果^[34]。胆固醇代谢过程中影响肿瘤微环境的关键分子机制 (Figure 1), 这可能是胆固醇促进 TNBC 进展的作用机制。

3 讨论与展望

近年来的研究发现, TNBC 与其他类型乳腺癌的基因和代谢特征有显著性不同, 甚至 TNBC 本身也由不同的亚型组成。代谢组学的发展让我们看到 TNBC 精准治疗的巨大潜力。胆固醇是雌激素相关受体的内源性配体^[35], 既往的临床研究大多研究激素受体阳性患者的胆固醇水平。由于很多条件难以控制, 以往的临床试验存在较多问题: ①不考虑降胆固醇药物, 只考虑乳腺癌与胆固醇水平, 没有服用降胆固醇药物的患者与服用药物患者的胆固醇水平难以比较; ②考虑乳腺癌患者胆固醇水平、降胆固醇药物, 患者开始服用降胆固醇药物的时间、药物的种类、药物的剂量等问题难以统一; ③胆固醇高的患者基线年龄较大, 体质指数较大, 这些因素也可能对乳腺癌预后产生不良影响; ④大多临床试验为观察性队列研究, 且治疗和随访时间的平均持续 5 年, 对于癌症发展所需的时间来说研究时间不够长; ⑤早期的临床研究很少区分不同类型的乳腺癌。由于临床研究存在以上困难, 以往的研究可靠性不足, 这也导致了研究结果的差异性。现有的针对 TNBC 以及胆固醇的研究集中于细胞以及动物实验, 从细胞信号途径解释相互影响。癌细胞的异常快速增殖需要利用大量胆固醇, 所以胆固醇的生物合成以及代谢都会增强, 但是肿瘤细胞的胆固醇并不会大量积累, 而是增加胆固醇酯化和氧化物, 同时这些产物对肿瘤生长有促进作用。这也可以解释为什么在 TNBC 细胞中并未检测出高水平的胆固醇, 但在动物模型实验中, 抑制上调胆固醇合成的靶点可有效抑制肿瘤增殖。



综上,随着对 TNBC 研究不断深入,癌细胞的代谢组学的研究进展给精准治疗提供有力的支持。例如, mTOR 抑制剂可能再次增加新适应证用于 TNBC, 谷氨酰胺酶抑制剂和 PI3K 抑制剂临床前实验已得到良好疗效, 正在进行包括 TNBC 在内的临床研究, 神经鞘氨醇酶抑制剂、STAT3 抑制剂和 ROR γ 拮抗剂也有可能成为 TNBC 新药研制的基础。随着分子技术的发展,从代谢组学发掘 TNBC 的治疗方法非常有希望。

参考文献:

[1] Denkert C, Liedtke C, Tutt A, et al. Molecular alterations in triple-negative breast cancer-the road to new treatment strategies[J]. Lancet, 2017, 389(10087): 2430-2442.

[2] Gong Y, Ji P, Yang YS, et al. Metabolic-pathway-based subtyping of triple-negative breast cancer reveals potential therapeutic targets[J]. Cell Metab, 2021, 33(1): 51-64.e9.

[3] Xiao Y, Ma D, Yang YS, et al. Comprehensive metabolomics expands precision medicine for triple-negative breast cancer[J]. Cell Res, 2022, 32(5): 477-490.

[4] Ripoll C, Roldan M, Ruedas-Rama MJ, et al. Breast cancer cell subtypes display different metabolic phenotypes that correlate with their clinical classification[J]. Biology(Basel), 2021, 10(12): 1267.

[5] Koundouros N, Karali E, Tripp A, et al. Metabolic fingerprinting links oncogenic PIK3CA with enhanced arachidonic acid-derived eicosanoids[J]. Cell, 2020, 181(7): 1596-1611.e27.

[6] Acharya S, Yao J, Li P, et al. Sphingosine kinase 1 signaling promotes metastasis of triple-negative breast cancer[J].

- Cancer Res, 2019, 79(16):4211–4226.
- [7] Grinde MT, Hilmarsson B, Tunstet HM, et al. Glutamine to proline conversion is associated with response to glutaminase inhibition in breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2019, 21(1):61.
 - [8] Nguyen T, Kirsch BJ, Asaka R, et al. Uncovering the role of N-acetyl-aspartyl-glutamate as a glutamate reservoir in cancer[J]. Cell Rep, 2019, 27(2):491–501, e6.
 - [9] Lee HH, Wang YN, Xia W, et al. Removal of N-linked glycosylation enhances PD-L1 detection and predicts anti-PD-1/PD-L1 therapeutic efficacy[J]. Cancer Cell, 2019, 36(2):168–178, e4.
 - [10] Xu H, Zhou S, Tang Q, et al. Cholesterol metabolism: new functions and therapeutic approaches in cancer[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2020, 1874(1):188394.
 - [11] Chimento A, Casaburi I, Avena P, et al. Cholesterol and its metabolites in tumor growth: therapeutic potential of statins in cancer treatment[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2019, 9:807.
 - [12] Ding X, Zhang W, Li S, et al. The role of cholesterol metabolism in cancer[J]. Am J Cancer Res, 2019, 9(2):219–227.
 - [13] Mayengbam SS, Singh A, Pillai AD, et al. Influence of cholesterol on cancer progression and therapy[J]. Transl Oncol, 2021, 14(6):101043.
 - [14] Van Wyhe RD, Rahal OM, Woodward WA. Effect of statins on breast cancer recurrence and mortality: a review [J]. Breast Cancer (Dove Med Press), 2017, 9:559–565.
 - [15] Touvier M, Fassier P, His M, et al. Cholesterol and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies[J]. Br J Nutr, 2015, 114(3):347–357.
 - [16] Islam MM, Yang HC, Nguyen PA, et al. Exploring association between statin use and breast cancer risk: an updated meta-analysis [J]. Arch Gynecol Obstet, 2017, 296(6):1043–1053.
 - [17] Finlay-Schultz J, Sartorius CA. Steroid hormones, steroid receptors, and breast cancer stem cells [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2015, 20(1–2):39–50.
 - [18] Ehmsen S, Pedersen MH, Wang G, et al. Increased cholesterol biosynthesis is a key characteristic of breast cancer stem cells influencing patient outcome[J]. Cell Rep, 2019, 27(13):3927–3938, e6.
 - [19] Nelson ER, Wardell SE, Jasper JS, et al. 27-Hydroxycholesterol links hypercholesterolemia and breast cancer pathophysiology[J]. Science, 2013, 342(6162):1094–1098.
 - [20] Baek AE, Yu YA, He S, et al. The cholesterol metabolite 27 hydroxycholesterol facilitates breast cancer metastasis through its actions on immune cells[J]. Nat Commun, 2017, 8(1):864.
 - [21] Yuan Y, Pan K, Mortimer J, et al. Metabolic syndrome risk components and mortality after triple-negative breast cancer diagnosis in postmenopausal women in the Women's Health Initiative[J]. Cancer, 2021, 127(10):1658–1667.
 - [22] Cai D, Wang J, Gao B, et al. RORgamma is a targetable master regulator of cholesterol biosynthesis in a cancer subtype[J]. Nat Commun, 2019, 10(1):4621.
 - [23] Huang B, Song BL, Xu C. Cholesterol metabolism in cancer: mechanisms and therapeutic opportunities[J]. Nat Metab, 2020, 2(2):132–141.
 - [24] Mullen PJ, Yu R, Longo J, et al. The interplay between cell signalling and the mevalonate pathway in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2016, 16(11):718–731.
 - [25] Wang X, Huang Z, Wu Q, et al. MYC-regulated mevalonate metabolism maintains brain tumor-initiating cells[J]. Cancer Res, 2017, 77(18):4947–4960.
 - [26] Wang YJ, Bian Y, Luo J, et al. Cholesterol and fatty acids regulate cysteine ubiquitylation of ACAT2 through competitive oxidation[J]. Nat Cell Biol, 2017, 19(7):808–819.
 - [27] Haskins JW, Zhang S, Means RE, et al. Neuregulin-activated ERBB4 induces the SREBP-2 cholesterol biosynthetic pathway and increases low-density lipoprotein uptake[J]. Sci Signal, 2015, 8(401):ra111.
 - [28] Chen YY, Ge JY, Zhu SY, et al. Copy number amplification of ENSA promotes the progression of triple-negative breast cancer via cholesterol biosynthesis[J]. Nat Commun, 2022, 13(1):791.
 - [29] Kaymak I, Maier CR, Schmitz W, et al. Mevalonate pathway provides ubiquinone to maintain pyrimidine synthesis and survival in p53-deficient cancer cells exposed to metabolic stress[J]. Cancer Res, 2020, 80(2):189–203.
 - [30] Kloudova A, Guengerich FP, Soucek P. The role of oxysterols in human cancer[J]. Trends Endocrinol Metab, 2017, 28(7):485–496.
 - [31] Villa GR, Hulce JJ, Zanca C, et al. An LXR-cholesterol axis creates a metabolic co-dependency for brain cancers [J]. Cancer Cell, 2016, 30(5):683–693.
 - [32] Wang B, Tontonoz P. Liver X receptors in lipid signalling and membrane homeostasis[J]. Nat Rev Endocrinol, 2018, 14(8):452–463.
 - [33] Lianto P, Hutchinson SA, Moore JB, et al. Characterization and prognostic value of LXR splice variants in triple-negative breast cancer[J]. iScience, 2021, 24(10):103212.
 - [34] Marti JLG, Beckwitt CH, Clark AM, et al. Atorvastatin facilitates chemotherapy effects in metastatic triple-negative breast cancer[J]. Br J Cancer, 2021, 125(9):1285–1298.
 - [35] Ghanbari F, Fortier AM, Park M, et al. Cholesterol-induced metabolic reprogramming in breast cancer cells is mediated via the ERRα pathway[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(11):2605.