

# 嗅觉受体在乳腺癌中的异位表达及作用机制研究进展

王 玥<sup>1,2</sup>, 刘 娜<sup>2</sup>, 李 明<sup>2</sup>

(1. 潍坊医学院临床医学院, 山东 潍坊 261053;

2. 山东大学齐鲁医院德州医院, 山东 德州 253000)

**摘要:** 嗅觉受体(olfactory receptors, ORs)现定位于嗅觉上皮, 主要功能是识别不同气味。近年来研究发现某些嗅觉受体在乳腺癌中存在异位表达, 并与乳腺癌的发生、进展及治疗相关。全文对乳腺癌中相关 ORs 的表达、生物学特点及作用机制进行总结, 探讨 ORs 作为乳腺癌肿瘤标志物的可能性以及在治疗中的潜在作用。

**关键词:** 乳腺癌; 嗅觉受体; 异位表达

**中图分类号:** R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2023)09-0749-05

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2023.09.B005

## Ectopic Expression of Olfactory Receptors and Its Mechanism in Breast Cancer

WANG Yue<sup>1,2</sup>, LIU Na<sup>2</sup>, LI Ming<sup>2</sup>

(1. School of Clinical Medicine, Weifang Medical University, Weifang 261053, China;

2. Qilu Hospital of Shandong University Dezhou Hospital, Dezhou 253000, China)

**Abstract:** Olfactory receptors(ORs) are primarily located in the olfactory epithelium with the function of recognizing diverse odors. Recently, ectopic expression of ORs has been reported in breast cancer and it may be involved in development of breast cancer. In this paper the expression, biological characteristics and regulatory mechanisms of ORs abnormally expressed in breast cancer are reviewed and the potential clinical applications of ORs as diagnostic biomarkers and treatment targets of breast cancer are discussed.

**Subject words:** breast cancer; olfactory receptor; abnormal expression

乳腺癌是女性最常见的癌症, 也是威胁女性身体健康的主要疾病<sup>[1-2]</sup>。由于其具有复杂多样的肿瘤异质性, 乳腺癌患者的治疗不仅要求规范化、更强调个体化。目前乳腺癌的具体发生机制尚未完全阐明, 深入研究乳腺癌发生、进展的分子机制, 可为临床的早期筛查、诊断及治疗提供重要参考。嗅觉受体(olfactory receptors, ORs)属于G蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptor, GPCR)超家族, 主要功能是感知嗅觉, 最初发现定位于嗅上皮的嗅感觉神经元。目前很多证据表明, ORs也可以分布在非嗅觉组织以及多种肿瘤组织中, 其潜在功能在很大程度上是未知的<sup>[3-9]</sup>。近年来研究发现, 乳腺癌中某些 ORs 表

达显著性升高, 并与乳腺癌的增殖、侵袭及转移密切相关。本文将对 ORs 在乳腺癌发生、进展中的作用、相关调控机制以及治疗中的研究进展作一综述。

## 1 ORs 结构与功能

1991年, Buck和Axel首次在小鼠体内发现了ORs基因克隆<sup>[10]</sup>。Olender等<sup>[11]</sup>发现, 人类大约有900个ORs基因, 其中将近500个基因属于无功能的假基因, 另外大约400个ORs基因具有完整的结构, 具有一定的潜在功能, ORs基因以簇的形式不均匀的分布在染色体上(除20号和Y号染色体外), 其中43%ORs基因位于11号染色体上<sup>[12]</sup>。ORs蛋白质的平均长度约为320±25个氨基酸残基, 7个疏水

**基金项目:** 山东省医学会乳腺疾病科研专项资金(YXH2021ZX059)

**通信作者:** 李明, E-mail: 782982329@qq.com

**收稿日期:** 2023-05-27; **修回日期:** 2023-08-06

的跨膜域是其结构的标志。一些保守的氨基酸序列可以将 ORs 与其他 GPCR 区别开, 包括跨膜域 3 (transmembrane domain 3, TM3) 末端最典型的 MAYDRYVAIC 序列, TM5 末端的一个非常短的 SY 序列, TM6 的 FSTCSSH 延伸序列和 TM7 中的 PMLNPF 序列等<sup>[13]</sup>。

ORs 最主要的功能是识别各种气味, 在气味的刺激下, ORs 可活化细胞内 G 蛋白, 激活腺苷酸环化酶, 将三磷酸腺苷 (adenosinetriphosphate, ATP) 转化为第二信使环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP)。cAMP 可以控制细胞膜离子通道引起的钙离子流入。因此, 化学信号被转换成电信号来实现嗅觉感知<sup>[10]</sup>。越来越多的研究发现, 在多数肿瘤组织中, 如前列腺癌、乳腺癌、甲状腺肿瘤、肺肿瘤、白血病、结直肠癌、恶性黑色素瘤等也检测到 ORs 的异位表达<sup>[14-19]</sup>。ORs 广泛参与了人类肿瘤的发生及进展。

## 2 ORs 在乳腺癌中的表达及作用

现有的研究显示, ORs 在乳腺癌细胞和组织中表达升高。在 45 种乳腺癌细胞系和 21 例乳腺癌组织样本中检测发现, 与正常乳腺组织相比, 70% 乳腺癌细胞系和 80% 乳腺癌组织中存在 OR2B6 的高表达, 因此推测其可能是乳腺癌的一个潜在标志物<sup>[20]</sup>。此外, OR2B6 还构建了一个与组蛋白基因 *HIST1H2BO* 的融合转录本, 乳腺癌组织中均可检测到 OR2B6 基因的转录本和融合转录本, 提示 ORs 基因的转录调控是复杂且灵活的。在 *CHEK2* 基因 1100del C 截断突变的乳腺癌中进行差异分析发现, 富集最显著的是嗅觉相关信号分子, 共有 34 个 ORs 基因的表达明显升高, 其中 16 个均定位于 11 号染色体上<sup>[21]</sup>。Asadi 等<sup>[22]</sup>在人类蛋白质图谱数据库和 GEPIA 癌症数据库中应用计算机模拟评价发现 OR51J1 在 21 种不同的肿瘤组织中的表达水平明显升高, 而且与正常组织相比, 在乳腺癌中的表达差异有显著性, 可能是乳腺癌的一个潜在的肿瘤靶点, 进一步检测结果显示乳腺癌中 OR51J1 与雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR)、人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 的表达密切相关, 其中 OR51J1

与激素受体的表达呈正相关, 与 HER2 表达呈负相关, 而与肿瘤的组织学分级、TNM 分期等临床参数无相关性。

ORs 表达还与乳腺癌的侵袭程度相关。Masjedi 等<sup>[23]</sup>在 TCGA 和 CCLE 数据库中分析 960 例乳腺癌组织样本和 56 种乳腺癌细胞系中 ORs 的异常表达, 发现 21 个 ORs 受体表达水平升高, 其中以 OR2B6、OR2W3、OR2T8 最为显著; 另外 OR2W3 在侵袭性强的基底样亚型乳腺癌中表达较高, 而 OR2B6 在分化较好的 Luminal A 型乳腺癌的表达水平明显升高。Kalra 等<sup>[24]</sup>应用单细胞转录组分析追踪 TCGA 数据库中 ORs 在肿瘤中的富集情况, 发现在 22 种恶性肿瘤细胞中, OR8B8 和 OR8H1 只在乳腺癌细胞中存在异位表达, 其中三阴性乳腺癌中 ORs 含量最多, 而且肿瘤细胞分化越好, ORs 含量越低, 研究提示特定 ORs 是预测乳腺癌侵袭程度的分子标志物。

目前研究表明, ORs 在乳腺癌中主要发挥促进作用。在乳腺癌细胞系中 ORs 增强或干扰 OR2T6 的表达, 促进肿瘤细胞的增殖、浸润和迁移, 抑制细胞凋亡。OR2T6 阳性表达的乳腺癌患者总生存时间和无病生存时间显著性缩短, 预后较差<sup>[25]</sup>。在乳腺癌远处转移脑、骨、肺灶中发现有 20 个 ORs 基因有异位表达, 而且与原发灶相比, OR5B21 在 3 个转移部位的表达量均明显升高; 敲除 OR5B21 显著性降低乳腺癌细胞的侵袭和迁移能力, 而相反增加 OR5B21 的转录本丰度<sup>[26]</sup>。

## 3 ORs 在乳腺癌中发挥作用的机制

目前发现 ORs 在乳腺癌中的异位表达主要与基因扩增有关。Li 等<sup>[25]</sup>在 cBioPortal 数据库中分析乳腺癌大样本数据中 OR2T6 基因改变, 发现有 9.26% (743/8023) 病例 OR2T6 基因发生变异, 其中以基因扩增为主。Masjedi 等<sup>[23]</sup>研究发现, 虽然有 31% 乳腺癌患者中检测到 ORs 基因突变, 但是在表达升高的 21 个 ORs 基因中, 没有一个出现了基因位点的改变, 提示在浸润性乳腺癌患者中, 过表达 ORs 基因的上调与基因突变无关。因此推测 ORs 在乳腺癌中的异常高表达可能与基因扩增关系密切, 而与基因缺失、易位等相关性不大。

G 蛋白偶联受体,由于内源性配体的难以鉴定,一直被称为“孤儿受体”,ORs 属于 GPCR 超家族的成员,其主要功能为识别环境中丰富且种类繁多的气味,因此其配体筛选非常复杂。另外,受异源细胞转染表达量低的影响,ORs 的去孤儿化非常困难<sup>[27]</sup>。表面等离子体共振(surface plasmon resonance,SPR)可直接检测蛋白质-配体的相互作用,可将目标蛋白固定在 SPR 芯片上,并在芯片上形成流动相来观察配体对目标蛋白的反应性,而且该技术只需要少量的蛋白质和化学物质进行分析,是近年来新型配体高通量筛选的有力工具。Choi 等<sup>[28]</sup>在构建稳定表达 OR6M1 乳腺癌细胞内应用 SPR 对 108 种化学物质进行配体活性筛选,发现蒽醌(anthraquinone,AQ)和芦丁是新的 OR6M1 的配体,分别为 OR6M1 的激动剂和拮抗剂。AQ 可诱导乳腺癌 MCF-7 细胞死亡,而芦丁作用相反,提示在特定配体的作用下,OR6M1 可能是乳腺癌的一种抗癌靶点。这项研究也为广泛用于发现其他孤儿 GPCR 的配体和功能提供了新的思路。

Singh 等<sup>[29]</sup>构建了一个新的生物物理模型来识别气味和受体之间的额外非线性相互作用,发现香豆素与 OR5P3 结合可导致嗅球和中枢神经系统的下游变化,证实香豆素为 OR5P3 的配体。为了进一步探讨 OR5P3 与其配体之间在分子水平的相互作用,Zhang 等<sup>[30]</sup>通过设计 3D 模型来模拟香豆素与 OR5P3 的结合过程,根据配体对接模型的预测结果,确定 OR5P3 的 TM6 和 TM7 参与了香豆素与 OR5P3 的对接,同时鉴定出与香豆素结合的关键氨基酸为酪氨酸 259 (tyrosine259,Tyr259)和苏氨酸 279(threonine279,Thr279)。研究表明结合不同配体的激活作用,靶向改变特定 ORs 受体的活性可能对肿瘤的进展产生不同程度的影响。

上皮-间充质转化(epithelial mesenchymal transition,EMT)、非编码 RNA、MAPK/ERK 等信号通路的调控在乳腺癌发生、进展过程起着重要作用<sup>[31]</sup>。Fonseca-Sánchez 等<sup>[32]</sup>对异常表达微小 RNA-18b (microRNA-18b,miRNA-18b) 的乳腺癌细胞进行转录谱分析,结果显示,敲除 miRNA-18b 诱导了 55 个 ORs 的表达上调,同时发现 ORs 没有与 miRNA-18b 相关的直接结合位点。因此,提出 ORs 的异位表达可能受到 miRNA-18b 介导的间接机制调控的可能

性。Li 等<sup>[25]</sup>研究发现,OR2T6 影响乳腺癌细胞上皮标志物 E-钙黏蛋白(E-cadherin)和间充质标志物 N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)的表达水平;另外,信号通路富集分析显示 MAPK/ERK 信号通路可能为 OR2T6 下游的效应通路之一,敲除 OR2T6 后可以触发 MAPK/ERK 信号通路的级联反应,通路中 *H-Ras*、*c-Myc*、*ERK* 和 *c-fos* 基因的表达明显降低。OR2T6 可能通过调节钙离子浓度使 *H-Ras* 从失活态转变为激活态,从而进一步激活下游 *ERK*、*c-Myc* 和 *c-fos* 因子的表达。因此,OR2T6 可能通过启动参与 EMT 和 MAPK/ERK 通路促进乳腺癌细胞的增殖和抑制乳腺癌细胞的凋亡。在乳腺癌模型中,信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)的异常表达与肿瘤远处转移过程中基质金属蛋白酶 9(MMP-9)、锌指转录因子 Snail 的过表达和核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的激活相关。敲低 OR5B21 表达可抑制 STAT3 的磷酸化,降低转录因子 C/EBP $\beta$  的表达水平,并激活 NF- $\kappa$ B,逆转 MMP-2、MMP-9 和 Snail 表达水平;而过表达 OR5B21 则相反,研究提示 OR5B21 通过 STAT3/NF- $\kappa$ B/C/EBP $\beta$  信号通路诱导 EMT,从而促进乳腺癌的转移<sup>[26]</sup>。

## 4 ORs 与乳腺癌的治疗

特定的 ORs 可能是乳腺癌潜在的治疗靶点,但由于 ORs 发挥作用受内源性配体、信号通路、多种分子等多种因素影响,不同的 ORs 在人类恶性肿瘤中发挥的生物学作用也不同。肿瘤内 ORs 相关的分子信号传导网络通路非常庞大且复杂。目前对 ORs 与乳腺癌治疗相关的研究大部分局限在现象层面。对患有放疗后疼痛的乳腺癌患者样本进行分析时发现,嗅觉信号传导通路出现富集,OR10V1、OR52N1 等基因表达明显升高,并推测这些 ORs 受体可能通过调控 MAPK/ERK 信号通路引发疼痛<sup>[33]</sup>。DNA 甲基化异常在诱发乳腺癌他莫昔芬耐药中起着重要作用,在乳腺癌 MCF-7 细胞和他莫昔芬耐药细胞 TMX2-11、TMX2-28 应用高通量检测分析发现,DNA 甲基化异常差异最明显的是嗅觉感知信号通路,其次是与细胞连接相关的信号分子通路,其中有大约 100 个 ORs 基因参与调控这两个信号通路<sup>[34]</sup>。应用白藜芦醇处理乳腺癌细胞 24 h 后,OR5P3 与 OR5P2

表达下调,然而处理肿瘤细胞 48 h 后,其表达出现相反改变趋势。研究提示在白藜芦醇调节乳腺癌细胞的细胞周期过程中,随着 DNA 修复的加强,肿瘤细胞的生物学特性改变,OR5P3 和 OR5P2 表达水平也出现动态改变<sup>[35]</sup>。通过模拟配体香豆素与 OR5P3 的结合,鉴定 OR5P3 和配体的分子结合位点,不仅有助于探讨 ORs 在抗肿瘤治疗中的调控作用机制,而且有助于设计更有效的、耐药性更少的治疗药物<sup>[30]</sup>。

## 5 总结与展望

研究表明部分嗅觉受体在乳腺癌中存在异位表达,并具有重要的功能,但由于其研究受多种因素的制约与影响,如生物学靶点的多样性、不同环境、不同配体的刺激所介导的生物学作用的复杂性,发掘嗅觉受体发挥作用的深层机制和明确乳腺癌恶性转化的机制仍然任重道远。探索 ORs 在肿瘤中的潜在功能,有助于进一步了解乳腺癌的肿瘤异质性以及生物学特性,寻求新的预后预测分子和肿瘤治疗靶点,以更好地指导乳腺癌的诊断和治疗。

## 参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, et al. Cancer statistics, 2023[J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(1): 17–48.
- [2] Kashyap D, Pal D, Sharma R, et al. Global increase in breast cancer incidence: risk factors and preventive measures[J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 9605439.
- [3] Maberg D, Hatt H. Human olfactory receptors: novel cellular functions outside of the nose[J]. Physiol Rev, 2018, 98(3): 1739–1763.
- [4] Orecchioni M, Kobiyama K, Winkels H, et al. Olfactory receptor 2 in vascular macrophages drives atherosclerosis by NLRP3-dependent IL-1 production[J]. Science, 2022, 375(6577): 214–221.
- [5] Chéret J, Bertolini M, Ponce L, et al. Olfactory receptor OR2AT4 regulates human hair growth[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 3624.
- [6] Li E, Shan H, Chen L, et al. OLF734 mediates glucose metabolism as a receptor of asprosin[J]. Cell Metab, 2019, 30(2): 319–328.
- [7] Kim H, Park SH, Oh SW, et al. Olfactory receptor OR7A17 expression correlates with all-trans retinoic acid (ATRA)-induced suppression of proliferation in human keratinocyte Cells[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(22): 12304.
- [8] He Z, Wang DW. Olfactory receptor 2 activation in macrophages: novel mediator of atherosclerosis progression[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 247.
- [9] Nakashima A, Nakashima N, Nakashima K, et al. Olfactory receptor 78 is expressed in hypothalamic vasopressin/oxytocin neurons, parenchymal microglia and choroidal macrophages in mice[J]. Mol Brain, 2022, 15(1): 29.
- [10] Buck L, Axel R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition[J]. Cell, 1991, 65(1): 175–187.
- [11] Olender T, Lancet D, Nebert DW. Update on the olfactory receptor(OR) gene superfamily[J]. Hum Genomics, 2008, 3(1): 87–97.
- [12] Raka RN, Wu H, Xiao J, et al. Human ectopic olfactory receptors and their food originated ligands: a review[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 62(20): 5424–5443.
- [13] Jimenez RC, Casajuana-Martin N, García-Recio A, et al. The mutational landscape of human olfactory G protein-coupled receptors[J]. BMC Biol, 2021, 19(1): 21.
- [14] Chen Z, Zhao H, Fu N, et al. The diversified function and potential therapy of ectopic olfactory receptors in non-olfactory tissues[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(3): 2104–2115.
- [15] Lee SJ, Deportere I, Hatt H. Therapeutic potential of ectopic olfactory and taste receptors[J]. Nat Rev Drug Discov, 2019, 18(2): 116–138.
- [16] Weidinger D, Jovancevic N, Zwanziger D, et al. Functional characterization of olfactory receptors in the thyroid gland[J]. Front Physiol, 2021, 27(12): 676907.
- [17] Chung C, Cho HJ, Lee C, et al. Odorant receptors in cancer[J]. BMB Rep, 2022, 55(2): 72–80.
- [18] Ye G, Zhang X, Li M, et al. Integrated analysis of circulating and tissue proteomes reveals that fibronectin 1 is a potential biomarker in papillary thyroid cancer[J]. BMC Cancer, 2023, 23(1): 412.
- [19] Ralli S, Jones SJ, Leach S, et al. Gene and pathway based burden analyses in familial lymphoid cancer cases: rare variants in immune pathway genes[J]. PLoS One, 2023, 18(6): e0287602.
- [20] Weber L, Maßberg D, Becker C, et al. Olfactory receptors as biomarkers in human breast carcinoma tissues[J]. Front Oncol, 2018, 15(8): 33.
- [21] Muranen TA, Greco D, Fagerholm R, et al. Breast tumors from CHEK2 1100delC-mutation carriers: genomic landscape and clinical implications [J]. Breast Cancer Res,

- 2011,13(5):R90.
- [22] Asadi M,Ahmadi N,Ahmadvand S,et al. Investigation of olfactory receptor family 51 subfamily J member 1 (OR51J1) gene susceptibility as a potential breast cancer-associated biomarker[J]. PLoS One,2021,16(2):e0246752.
- [23] Masjedi S,Zwibel LJ,Giorgio TD. Olfactory receptor gene abundance in invasive breast carcinoma[J]. Sci Rep,2019,9(1):13736.
- [24] Kalra S,Mittal A,Gupta K,et al. Analysis of single-cell transcriptomes links enrichment of olfactory receptors with cancer cell differentiation status and prognosis[J]. Commun Biol,2020,3(1):506.
- [25] Li M,Wang X,Ma RR,et al. The olfactory receptor family 2, subfamily T, member 6(OR2T6) is involved in breast cancer progression via initiating epithelial-mesenchymal transition and MAPK/ERK pathway[J]. Front Oncol,2019,11(9):1210.
- [26] Li M,Schweiger MW,Ryan DJ,et al. Olfactory receptor 5B21 drives breast cancer metastasis[J]. iScience,2021,24(12):103519.
- [27] Sakellakis M. Orphan receptors in prostate cancer [J]. Prostate,2022,82(10):1016–1024.
- [28] Choi YR,Shim J,Park JH,et al. Discovery of orphan olfactory receptor 6M1 as a new anticancer target in MCF-7 cells by a combination of surface plasmon resonance-based and cell-based systems[J]. Sensors (Basel),2021,21(10):3468.
- [29] Singh V,Murphy NR,Balasubramanian V,et al. Competitive binding predicts nonlinear responses of olfactory receptors to complex mixtures[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2019,116(19):9598–9603.
- [30] Zhang R,Wang P,Yu S,et al. Computational prediction methods to simulate structure and binding sites of coumarin with olfactory receptor 5P3 [J]. J Toxicol Environ Health A,2019,82(23–24):1199–1206.
- [31] Hashemi M,Arani HZ,Orouei S,et al. EMT mechanism in breast cancer metastasis and drug resistance: revisiting molecular interactions and biological functions[J]. Biomed Pharmacother,2022,155: 113774.
- [32] Fonseca-Sánchez MA,Pérez-Plasencia C,Fernández-Retana J,et al. MicroRNA-18b is upregulated in breast cancer and modulates genes involved in cell migration[J]. Oncol Rep,2013,30(5):2399–2410.
- [33] Lee E,Takita C,Wright JL,et al. Genome-wide enriched pathway analysis of acute post-radiotherapy pain in breast cancer patients: a prospective cohort study[J]. Hum Genomics,2019,13(1):28.
- [34] Williams KE,Anderton DL,Lee MP,et al. High-density array analysis of DNA methylation in tamoxifen-resistant breast cancer cell lines[J]. Epigenetics,2014,9(2):297–307.
- [35] Medina-Aguilar R,Marchat LA,Arechaga Ocampo E,et al. Resveratrol inhibits cell cycle progression by targeting aurora kinase A and polo-like kinase 1 in breast cancer cells[J]. Oncol Rep,2016,35(6):3696–3704.

## 《肿瘤学杂志》关于论文中基金项目标注的要求

获得基金/课题、计划等资助的论文应在论文首页地脚以“基金项目:”作为标识,注明基金项目名称(标准的书面全称,避免使用不规范的口头缩略语),并在圆括号内注明其项目编号(基金项目批准文号)。

基金项目名称应按照国家有关部门规定的正式名称填写,多项基金应依据基金级别依次列出,其间以“;”隔开。同一基金涉及多个项目,其间以“,”隔开连排,句末不加标点。示例如下:

**基金项目:**国家自然科学基金(81774233,81602088);“十一五”国家高技术研究发展计划(2006AA05Z102);浙江省教育科学规划课题(2020SCG307)

凡是标注基金项目的论文,在投稿时应同时邮寄体现基金项目名称全称及批准文号的相关通知复印件(全文),或扫描件其电子文档以附件形式上传至投审稿系统。