基础研究 文章编号:0253-3626(2010)08-1155-05

ERK 抑制对乳腺癌细胞(MCF-7)PCAF 的影响和意义

李苏华,邓华瑜,郑维萍
(重庆医科大学基础医学院病理生理学教研室、干细胞与组织工程研究室,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究 ERK 抑制在雌激素对乳腺癌细胞 MCF-7 促细胞周期转化、抗凋亡过程中核受体辅激活因子 PCAF 及野生型 p53 蛋白的表达、转录水平变化,探讨 ERK 通过 PCAF 对雌激素受体信号通路的作用和机理。方法:以雌激素受体阳性乳腺癌细胞 MCF-7 为研究对象,实验分组为 17β-雌二醇(17β-estradiol, 17β-E_2)处理组、17β-E_2 + ERK 抑制剂 PD98059 处理组和细胞对照组。流式细胞术检测细胞凋亡、细胞周期;Western blot 检测 P-ERK1/2、PCAF 和野生型 P53 蛋白水平;RT-PCR 检测野生型 PCAFmRNA、p53mRNA 水平。结果:应用 ERK 磷酸化抑制剂 PD98059 后,能抑制 17β-E_2 抗 MCF-7 细胞凋亡的作用,使细胞早期凋亡率增加,其差异具有统计学意义($P<0.05$);能抑制 17β-E_2 促进 MCF-7 细胞周期转化作用,使 G_1 期细胞增加,S 期和 G_2 期细胞减少,其差异具有显著统计学意义($P<0.01$);PCAF 和 P-ERK1/2 蛋白表达水平显著降低($P<0.01$),PCAFmRNA 转录水平差异无统计学意义($P>0.05$);野生型 P53 蛋白表达和 p53mRNA 转录水平升高($P<0.01$)。结论:ERK 在 17β-E_2 抗乳腺癌细胞 MCF-7 凋亡、促细胞周期转化中的作用与 PCAF 增强雌激素受体信号及野生型 p53 蛋白表达和基因转录水平改变有关。

【关键词】17β-雌二醇;PD98059;ERK;PCAF;野生型 p53;乳腺癌
【中国图书分类法分类号】R737.9;R730.231+.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-03-04

The effect and significance of inhibitting ERK on PCAF in breast cancer cell MCF-7

LI Su-hua, et al
(*Department of Pathophysiology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

作者介绍:李苏华(1970-),男,硕士,
研究方向:乳腺癌发病的信号转导机制。
通讯作者:邓华瑜,女,教授,E-mail: cqdenghy@yahoo.com.cn。

【Abstract】*Objective*: To explore the mechanisms of ERK in affecting estrogen receptor signaling pathway by investigating the changes of the expression levels of nuclear receptor co-activator

于损伤较不严重黏膜,而非溃疡坏死部位,与相关文献报道一致[11,12],提示移植 BMSCs 优先趋向上皮再生部位迁移,其机制尚有待研究。

参 考 文 献

[1] Lopez-Cubero S O, Sullivan K M, McDonald G B. Course of crohn's disease after allogeneic marrow transplantaiton[J]. Gastroenterol, 1998, 114(3): 433-444.

[2] Woodbury D, Schwarz E J, Prockop I B. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons[J]. J Neurosci Res, 2000, 61(4): 364-370.

[3] Liechty K W, Mackenzie T C, Shaaban A F, et al. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep[J]. Nature Med, 2000, 6: 1282-1286.

[4] 段进粮,聂玉强,李瑜元,等.大鼠骨髓间充质干细胞移植后在溃疡性结肠炎模型肠道的定位[J].广州医学院学报,2006,34(1):1-4.

[5] Lee J, Kuroda S, Shichinohe H, et al. A preclinical assessment model of rat autogenetic bone marrow stromal cell transplantation into the central nervous system[J]. Brain Res Protoc, 2004, 14: 37-44.

[6] Levy Y S, Bahat-Stroomza M, Barzilay R, et al. Regenerative effect of neural-induced human mesenchymal stromal cells in rat models of Parkinson's disease[J]. Cytotherapy, 2008, 10(4): 340-352.

[7] *Honczarenko M, Le Y, Swierkowski M, et al.* Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors[J]. Stem Cells, 2006, 24(4): 1030-1041.

[8] Ruster B, Gottig S, Ludwig R J, et al. Mesenchymal stem cells (MSCs) display coordinated rolling and adhesion behavior on endothelial cells[J]. Blood, 2006, 108(12): 3938-3944.

[9] Minguell J J, Erices A, Conget P. Mesenchymal stem cells[J]. Exp Biol Med, 2001, 226(6): 507-520.

[10] Krampera M, Pizzolo G, Aprili G, et al. Mesenchymal stem cells for bone, cartilage, tendon and skeletal muscle repair[J]. Bone, 2006, 39(4): 678-683.

[11] Alain C, Jean M, Morad B, et al. Mesenchymal stem cells home to injured tissues when co-infused with hematopoietic cells to treat a radiation-induced multi-organ failure syndrome[J]. Gene Med, 2003, 5(12): 1028-1038.

[12] Sabine F, Morad B, Moubarak M, et al. Local irradiation not only induces homing of human mesenchymal stem cells at exposed sites but promotes their widespread engraftment to multiple organs: a study of their quantitative distribution after irradiation damage[J]. Stem Cells, 2006, 24(4): 1020-1029.

(责任编辑:冉明会)

PCAF protein and wild-type P53 protein and their gene transcription in the process of estrogen promoting transformation of cell cycle and resisting apoptosis of breast cancer cell MCF-7 after inhibitting ERK. *Methods*: Estrogen receptor-positive breast cancer cells MCF-7 were divided into 17β-estradiol treatment group, 17 β-E_2 + ERK inhibitor PD98059 treatment group, and the control group. The apoptosis of cell and cycle were analyzed by flow cytometry. The expression of phosphorylated ERK1/2 and PCAF protein and wild-type p53 were detected by Western blot.The expression of pcaf mRNA and wild-type p53 mRNA were detected by RT-PCR. *Results*: With phosphorylation inhibitor of ERK PD98059, the effect of 17β-estradiol in resisting apoptosis and prmoting transformation of MCF-7 cell cycle was reversed, and the rate of early apoptosis of MCF-7 cell was raised ($P<0.05$). The number of G_1 phase cells increased, and the number of S and M phase cells decreased($P<0.01$). The expression level of PCAF protein and P-ERK1/2 protein decreased remarkably ($P<0.01$). The difference of gene transcription of PCAF had no statistical significance ($P>0.05$). The protein expression level and gene transcription of wild-type P53 were reinforced ($P<0.01$). *Conclusion*: The effect of ERK on estrogen in resisting apoptosis and promoting transformation of breast cancer cell MCF-7 are associated with PCAF enhancing the signal of estrogen receptor, and changing of the expression level of wild-type p53 protein and its gene transcription.

【Key words】17β-estradiol; PD98059; ERK; Wild-type p53; PCAF; Breast cancer line MCF-7

约三分之二乳腺癌为雌激素受体(Estrogen receptor, ER)表达阳性,ER^+乳腺癌细胞发生发展除了通过雌激素结合并激活 ER 的模式调控外,生长因子受体介导的细胞外信号调节蛋白激酶(Extracellular-signal regulated protein kinase, ERK)信号转导通路可能也发挥了重要作用,协同雌激素的 ER 模式调控着乳腺癌细胞周期转化和凋亡。被激活的 ERK 信号转导通路可增强 ER^+乳腺癌细胞 ER 信号转导通路的活性[1]。在人 ER^+乳腺癌细胞 MCF-7 中,核受体辅激活因子 p300/环磷腺苷反应原件结合蛋白的结合蛋白相关因子(p300/binding protein of cAMP response element binding protein association factor, PCAF)有可能是活化的 ERK 增强 ER 活性的重要分子。

本研究以 ER^+乳腺癌细胞系 MCF-7 为实验对象,经 17β-E_2、17β-E_2 + ERK 抑制剂 PD98059 分别处理,观察细胞凋亡、细胞周期转化的改变,检测 P-ERK、PCAF 和野生型 p53 的水平,探讨 ERK 通过 PCAF 对雌激素受体信号通路的作用和机理。

1 材料与方法

1.1 材料

ER^+人类乳腺癌细胞系 MCF-7 由本校超声研究所实验室提供。新生小牛血清购于杭州四季青公司,17β-E_2购自美国 Sigma 公司、PD98059 购自美国 BIOSOURCE 公司。Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自杭州碧云天生物技术研究所,RT-PCR 试剂盒购自杭州博日科技有限公司,鼠抗人 P-ERK 单克隆抗体、鼠抗人野生型 p53 单克隆抗体、鼠抗人 PCAF 单克隆抗体、鼠抗人 β-actin 单克隆抗体购自美国的 SantaCruz 公司。BD.LSR 型流式细胞仪为美国 Beckman Coulter 公司产品,PCR 扩增仪为美国 Biometra 公司产品;凝胶成像系统为美国 Bio-rad 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 去雌激素新生牛血清制备[2] 新生小牛血清加入葡聚糖 40000 25 mg/100 ml,待其完全溶解后再加活性炭 250 mg/100 ml,在 55℃水浴中作用 45 min,3 000 g 离心 10 min,取上清液。连续处理 2 次以除去血清中的雌激素。处理后的血清用金属滤器(0.45、0.22 μm 两层滤膜)过滤除菌后,于 -20℃保存备用。

1.2.2 细胞培养和实验分组 将乳腺癌细胞 MCF-7 常规复苏,接种于含 10%去雌激素新生小牛血清,10×10^4 U/L 青霉素,100 mg/L 链霉素和 4 μ/100 ml 胰岛素的高糖无酚红 DMEM 培养液中培养。实验分组 细胞对照组:不加药,每日换无酚红高糖 DMEM 培养液;17β-E_2 处理组:17β-E_2 作用浓度为 60 nmol/L;17β-E_2 +PD98059 处理组:17β-E_2 作用浓度为 60 nmol/L,PD98059 作用浓度为 20 μmol/L。细胞进入对数生长期后加药处理用于实验,每 24 h 换液以维持药物浓度。

1.2.3 流式细胞术检测细胞周期 常规培养细胞,细胞实验分组如 1.2.2。当细胞进入对数生长期后,改无酚红无血清 DMEM 培养液,17β-E_2 组加 60 nmol/L 17β-E_2,17β-E_2 + PD98059 组加 60 nmol/L 17β-E_2,20 μmol/LPD98059 培养 48 h 后,用胰酶消化,收集细胞,洗涤细胞 2 次。以 70%的冷乙醇固定,4℃过夜。洗涤细胞 2 次,加入含 50 μg/ml RNase 的 PBS 溶液 500 μl,37℃水浴 30~60 min。加入含 100 μg/ml 的碘化丙啶(PI)的 PBS 溶液 1 ml,避光染色 30 min,BD.LSR 流式细胞仪测定荧光强度(激发波长 488 nm)。采用 MODFIT2.0 分析软件进行细胞周期 DNA 含量分析。

1.2.4 流式细胞仪 Annexin V-FITC/PI 双标记法检测 17β-雌二醇、PD98059 对 MCF-7 细胞凋亡的影响 细胞处理同 1.2.3,药物作用 48 h 时分别用 0.1%胰酶消化实验组和对照组细胞,制成单细胞悬液(细胞数为 1×10^6 个/ml),取 1 ml 细胞,1 000 r/min 4℃离心 10 min,弃上清液,此步骤重复 2 次。然后加入 1 ml 预冷的 PBS,轻轻震荡使细胞悬浮,然后 1 000 r/min 4℃离心 10 min,弃上清液。接着将细胞重悬于 200 μl 结合缓冲液,并加入 10 μl Annexin V-FITC 和 5 μl PI,轻轻混匀,避光室温反应 15 min 或 4℃反应 30 min。最后加入 300 μl

结合缓冲液,立即上流式细胞仪检测。光源为 488 nm 氩离子激光器,FITC 受激发后发绿色荧光,PI 发红色荧光。可得四方格图,其中右上方格代表晚期凋亡和死亡细胞百分率,右下方格表示早期凋亡细胞百分率。

1.2.5 Western blot 检测 P-ERK1/2、P53 和 PCAF 的表达 常规培养细胞,细胞分组如前。加药培养 48 h 后,分别收集对照组与实验组细胞约 5×10^6 个,用 RIPA 细胞裂解液裂解细胞,提取总蛋白。用 Bradford 法测定蛋白含量。取 60 μg 细胞总蛋白进行 12%变性 SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳,转移至 PVDF 膜。常规封闭、洗膜后与 1:300 鼠抗人 P-ERK、P53、PCAF 抗体 4℃孵育过夜,洗膜后加入 1:1 000 羊抗鼠IgG/HRP 37℃孵育 2 h。ECL 显色,用 Bio-Rad 图象分析系统照相,用 Quantity One 软件分析,以相应蛋白条带的灰度值/β-actin蛋白条带的灰度值表示相对蛋白含量。

1.2.6 RT-PCR 检测 p53mRNA、PCAFmRNA 的表达 常规培养细胞,细胞分组如前。加药培养 48 h 后,用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,进行琼脂糖电泳及利用紫外分光光度仪测定 RNA 纯度和浓度,逆转录反应合成第一链 cDNA,进行 PCR 反应。P53 引物序列:上游引物:5'-TCAGTCTACCTCCCGCCATAA -3',下游引物:5'-TTTCTTACATCTCCCAAACATCC-3'。扩增产物为 326 碱基对(Base pair,bp)。PCAF 引物序列:上游引物:5'- GAAAAACCCTAACCCCTCACC -3'下游引物:5'- CCTTGTGGACACAGGTAAAGAGA -3',扩增产物为 200 bp 片段。GAPDH 引物序列:上游引物 5'-GGCAAATTCCATGGCACCGTC - 3',下游引物 5'-CATACTCAGCGCCAGCATCGC-3',扩增产物为 128 bp 片段。反应条件为:94℃预变性 2 min 后,94℃变性 30 s,57℃ 30 s,72℃ 30 s,35 个循环。最后 72℃延伸 10 min。取 5 μl PCR 产物在 1.5%琼脂糖凝胶中电泳,溴化乙锭显色,用自动凝胶成像分析系统中 Quantity one 软件分析各扩增条带产物的含量,用 p53 基因、PCAF 基因与 GAPDH 基因吸光密度的比值进行分析。

1.3 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用多样本均数比较的方差分析、多重比较的 q 检验对数据进行分析,以 $P\leq0.05$ 表示差异有统计学意义,$P>0.05$ 表示差异无统计学意义。

2 结 果

2.1 流式细胞术测细胞周期结果

如表 1 所示,17β-E_2 作用 48 h 后能促进 MCF-7 细胞周期转化,使 G_1 期细胞减少,S 期和 G_2 期细胞增多,细胞增殖明显($P<0.01$);联合应用 PD98059 后,G_1 期细胞增加,S期+G_2 期细胞减少($P<0.01$)。但 PD98059 对 17β-E_2 促MCF-7 细胞周期转化的逆转未恢复到细胞对照组水平($P<0.01$)。差异具有统计学意义。

2.2 流式细胞术测细胞凋亡结果

由图 1、表 2 可知,17β-E_2 可降低 MCF-7 细胞早期凋亡率($P<0.05$),联合 PD98059 后细胞早期凋亡率升高,差异具有统计学意义。各组细胞的晚期凋亡和死亡细胞率差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 Western blot 结果

结果表明,60 nmol/L 的 17β-E_2作用 MCF-7 细胞 48h后,与细胞对照组相比,P-ERK1/2 蛋白、PCAF 蛋白的表达增加,P53 蛋白表达降低($P<0.01$)。应用 PD98059 后,与 17β-E_2 组相比,P-ERK1/2、PCAF 蛋白表达降低,P53 表达增加($P<0.01$)。差异具有显著统计学意义,见图 2、表 3。

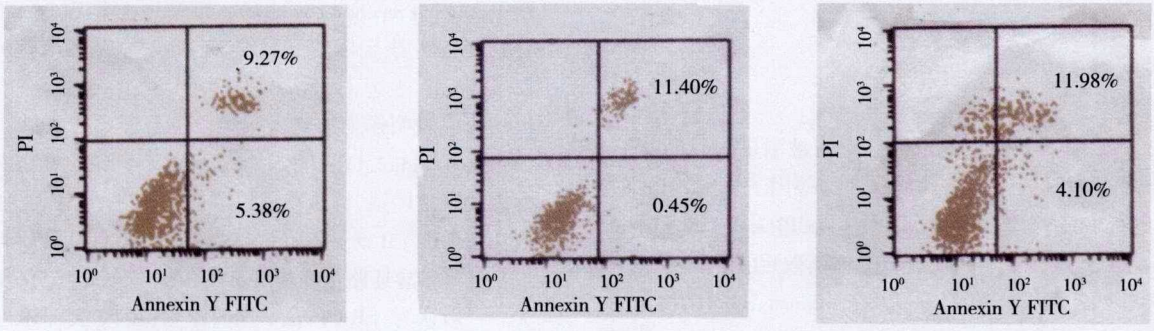
2.5 RT-PCR 结果

如图 3、4 及表 4 所见,6×10^{-8}mol/L 的 17β-E_2 作用于 MCF-7 细胞 48 h 后,与细胞对照组相比,野生型 p53mRNA 表达降低,pcafmRNA 表达增高($P<0.01$),联合应用 PD98059

表 1 17β-E_2 和 PD98059 对 MCF-7 细胞周期的影响($\bar{x}\pm s$)

分组	G_1 期(%)	S 期(%)	G_2 期(%)
对照组	71.86 ± 2.34	20.45 ± 1.96	7.69 ± 1.78
17β-E_2 处理组	57.19 ± 2.17*	33.92 ± 2.21*	8.37 ± 1.69
17β-E_2 +PD98059 处理组	65.11 ± 2.08*#	26.53 ± 1.82*#	8.89 ± 1.72

*$P<0.01$ 与 对照组相比;#$P<0.01$ 与 17β-E_2 处理组相比



对照组 17β-E_2 处理组 17β-E_2 +PD98059 处理组

图 1 17β-E_2 和 PD98059 影响 MCF-7 细胞凋亡时相分析图

表 2　17β-E_2 和 PD98059 对 MCF-7 细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s$)

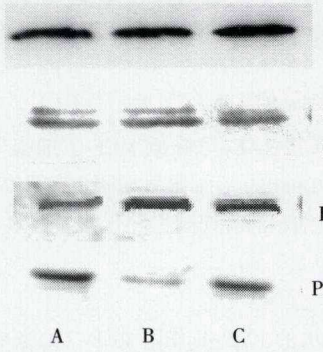
分　组	早期凋亡率(%)	晚期凋亡率(%)
对照组	5.02 ± 0.06	9.15 ± 0.09△
17β-E_2 处理组	0.47 ± 0.11*	10.92 ± 0.14△
17β-E_2 +PD98059 处理组	3.96 ± 0.08#	9.45 ± 0.28△

*P<0.05 与对照组相比；#P<0.05 与 17β-E_2 处理组相比；△P>0.05 每组互比

表 3　各组细胞 p-ERK1/2、p53、PCAF 蛋白相对含量($\bar{x} \pm s$)

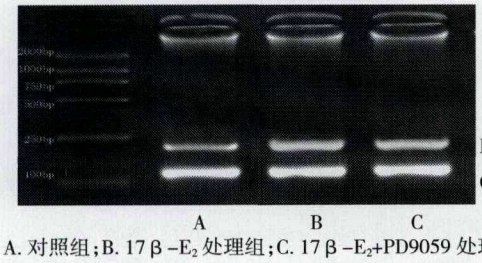
分　组	p-ERK1/2	PCAF	野生型 p53
对照组	0.659 7 ± 0.028 2	0.315 5 ± 0.026 4	0.405 3 ± 0.017 7
17β-E_2 处理组	0.867 7 ± 0.022 0*	0.490 1 ± 0.030 8*	0.268 1 ± 0.015 7*
17β-E_2 +PD98059 处理组	0.509 9 ± 0.020 4#	0.384 0 ± 0.034 1#	0.366 4 ± 0.014 0#

*P<0.05 与对照组相比；#P<0.05 与 17β-E_2 处理组相比



A. 对照组；B. 17β-E_2 处理组组；C. 17β-E_2+PD9059 处理组组

图 2　17β-E_2 和 PD98059 对 MCF-7 细胞中 P-ERK1/2、P53、PCAF 蛋白表达的因影响



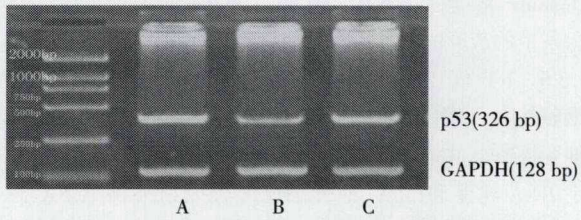
A. 对照组；B. 17β-E_2 处理组；C. 17β-E_2+PD9059 处理组

图 4　17β-E_2 和 PD98059 对 MCF-7 细胞中 PCAFmRNA 的表达的影响

后，与 17β-E_2 组相比，野生型 p53mRNA 表达增高(P<0.01)，差异具有统计学意义。而 pcafmRNA 的(P>0.05)，差异无统计学意义。

3　讨　论

核受体除了因与自身配体结合而被激活外，还可通过促进某些辅激活因子的表达或募集这些因子来反式激活自身。CBP/p300 结合蛋白相关因子(p300/CBP association factor，PCAF)就是这类因子。同所有核受体辅激活因子一样，PCAF 具有组氨酸乙酰转移酶(Histone acetyltransferase，HAT)作用，其 C- 末端 352-832 氨基酸范围具有组蛋白乙酰化活性区。N- 末端功能尚不清楚，PCAF 能与核受体的 DNA 结合区



A. 对照组；B. 17β-E_2 处理组组；C. 17β-E_2+PD9059 处理组

图 3　17β-E_2 和 PD98059 对 MCF-7 细胞中 p53mRNA 表达的影响

表 4　各组细胞 p-ERK1/2、p53、PCAF 蛋白相对含量($\bar{x} \pm s$)

分　组	野生型 p53	PCAF
对照组	0.374 2 ± 0.027 2	0.219 5 ± 0.035 7
17β-E_2 处理组	0.228 2 ± 0.030 9*	0.399 7 ± 0.042 8*
17β-E_2 +PD98059 处理组	0.307 6 ± 0.013 4#	0.350 8 ± 0.035 2△

*P<0.01 与对照组相比；#P<0.01 与 17β-E_2 处理组相比；△P>0.05 与 17β-E_2 处理组相比

(DNA binding domn，DBD)结合[3]，使相应核受体乙酰化。如同磷酸化作用和去磷酸化作用一样，乙酰化作用和去乙酰化作用是调控转录因子活性的普遍机制[4]。据文献报道，组蛋白去乙酰化酶(Histone deacetylase，HDAC)参与了 ER(至少 1 个亚型)转录表达的过程，导致 ER 基因转录受到抑制，表达下调[5]。HAT 与 HDAC 在功能上是相互拮抗的，作为一种 HAT，PCAF 能与多种类固醇核受体相互作用促进转录，如维甲酸受体、糖皮质激素受体等[3]。Brooks[6]等研究发现类固醇受体共激活因子(Steriod receptor coactivator-1，SRC-1)能和 PCAF 形成复合物而促进核受体转录，上调 ER+ 乳腺癌细胞 MCF-7 的 ERα mRNA 表达。因此，PCAF 可能与 ER 活性增强有关。我们的研究表明作为细胞内雌激素主要形式的 17β- 雌二醇(17β-estradiol，17β-E_2)能促进 MCF-7 细胞 PCAF 蛋白和基因的表达增强，提示雌激素可通过促进 PCAF 蛋白和基因表达来增强 ER 活性，形成雌激素效应的正反馈机制。

信号转导通路与细胞增殖、细胞周期转化、分化和凋亡有关。一般认为，ERK 的激活主要由生长因子类配体与细胞表面的相应受体酪氨酸激酶结合启动。由于细胞信号转导的网

络化作用，近年来有研究认为雌激素抑制细胞凋亡和促进细胞增殖的作用有可能通过激活 ERK 信号转导通路进行。Yue W 等[7]研究发现雌激素 17β-E_2 能使 ER+ 乳腺癌细胞MCF-7 多肽生长因子受体磷酸化，如胰岛素样生长因子受体。Migliccacci 等[8]认为乳腺癌细胞 MCF-7 在 17β-E_2 刺激下使非受体酪氨酸激酶 Src 磷酸化。多肽生长因子受体磷酸化是 ERK 信号转导通路激活的重要始动环节，而 Src 也是 ERK 激活的一个重要因子。本研究显示当应用 ERK 磷酸化抑制剂 PD98059 后，MCF-7 细胞 P-ERK1/2 表达下降。17β-E_2 促 MCF-7 细胞周期转化的效应和抗 MCF-7 细胞凋亡的效应受到抑制，G_0/G_1 期细胞增多，S 期细胞减少，细胞被阻滞于 G_0/G_1 期。MCF-7 细胞早期凋亡率增高。表明雌激素可通过激活 ERK 信号转导通路来抑制 ER 乳腺癌细胞 MCF-7 凋亡，促进 MCF-7 细胞周期转化，从而促进 MCF-7 细胞增殖。

从本研究可见 PD98059 抑制 ERK 信号通路后，细胞 PCAF 蛋白表达水平明显降低，这提示 17β-E_2 可通过激活 ERK 信号通路增加 PCAF 蛋白表达水平来增强 ER 活性，加强雌激素效应的正反馈作用。Vicent 等[9]研究发现在小鼠乳房肿瘤细胞中，磷酸化的 ERK 可募集大量 PCAF。有研究报道激活的 ERK 可使血管平滑肌细胞的 SRC-1 活化[1]，活化的SRC-1 与 PCAF 结成复合物而促进受体基因转录[6]。我们的研究支持以上文献报道并认为在人乳腺癌细胞 MCF-7 中，活化的 ERK 可以通过促进 PCAF 蛋白的表达来增强雌激素受体活性，从而提高雌激素受体阳性乳腺癌对雌激素的敏感性。本实验中未见 PD98059 对 MCF-7 细胞的 PCAF 基因转录水平产生明显影响，基因转录与蛋白表达水平的改变未呈同步，调控机制有待明确。

野生型 P53 蛋白是重要的抑癌基因产物，负性监控细胞周期转化，诱导凋亡。Hsu 等[10]研究发现癌基因 MCT-1 可通过增强 ERK1/2 蛋白磷酸化水平来降低野生型 p53 的表达。肿瘤细胞 P53 调控障碍导致细胞凋亡失控和细胞周期失控，这是肿瘤细胞具备无限增殖的基础。本研究发现，17β-E_2 可降低 ER^+ 乳腺癌细胞 MCF-7 的 P53 蛋白表达和 p53mRNA 转录水平。应用 PD98059 可抑制 17β-E_2 这种效应，使细胞的 P53 蛋白表达和 p53mRNA 转录水平增高。可以认为，雌激素通过激活 ERK 信号通路，增加 PCAF 蛋白的表达而增强 ER 活性，下调野生型 p53 基因转录和蛋白表达水平，从而影响 MCF-7 细胞的凋亡、细胞周期转化过程。

参 考 文 献

[1] Bunone G, Briand P A, Miksicek R J, et al. Activation of the unliganded estrogen receptor by EGF involves the MAPKinase pathway and directly phosphorylation[J]. EMBOJ, 1996, 15(9): 2174-2183.

[2] Westley B, Rochefort H. A secreted glycoprotein induced by estrogen in human breast cancer cell lines[J]. Cell, 1980, 20(2): 353-362.

[3] Blanco J C G, Minucci S, Lu J, et al. The histone acetylase PCAF is a nuclear receptor coactivator[J]. Genes Develop, 1998, 12(11): 1638-1651.

[4] Alexandre C, Arun P, Eric S, et al. Acetylation of interferon regulatory factor-7 by p300/CREB-binding protein (CBP)-associated factor (PCAF) impairs its DNA binding[J]. J Biol Chem, 2002, 277(51): 49417-49421.

[5] 霍志军，陈道瑾，李小荣，等. 乳腺癌中 HDAC1 和 ER 的表达及意义[J]. 实用肿瘤杂志，2007，22(5)：420-422.

[6] Brooks S C, Skafar D F. From ligand structure to biological activity: modified estratrienes and their estrogenic and antiestrogenic effects in MCF-7 cells[J]. Steroids, 2004, 69(6): 401-418.

[7] Yue W, Wang J P, Conaway M R, et al. Adaptive hypersensitivity following long term estrogen deprivation: involvement of multiple signaling pathways[J]. Steroid Biochem, Mol. Cell. Biol, 2003, 86(3-5): 265-274.

[8] Migliccio A, Domenico M D, Castoria G, et al. Steroid receptor regulation of epidermal growth factor signaling through src in breast and prostate cancer cells: Steroid antagonist action[J]. Cancer Res, 2005, 65(22): 10585-10593.

[9] Vicent G P, Ballare C, Roser Z, et al. Chromatin remodeling and control of cell proliferation by progestins via cross talk of progesterone receptor with the estrogen receptors and kinase signaling pathways [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2006, 108(9): 59-72.

[10] Hsu H L, Choy C O, Kasiappan R, et al. MCT-1 oncogene downregulates p53 and destabilizes genome structure in the response to DNA double-strand damage[J]. DNA Repair, 2007, 6(9): 1319-1332.

（责任编辑：冉明会）