

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.04.022

恶性肿瘤骨转移分子机制的研究进展

Advances in molecular biological studies of bone metastases machines

初云霞 综述;王秀问 审阅(山东大学齐鲁医院肿瘤防治中心,山东济南 250012)

[摘要] 骨转移是乳腺癌、前列腺癌等晚期恶性肿瘤的常见并发症。癌细胞增殖转移到骨引起溶骨性和成骨性骨损伤,其发生是多个因素共同作用的结果。近年来的研究发现肿瘤细胞与骨微环境之间存在相互作用,骨基质中富含的某些细胞因子如转化生长因子(TGF- β)、胰岛素样生长因子(IGF-I和IGF-II)等直接促进肿瘤细胞生长,并在维持骨形成和骨破坏的动态平衡中发挥重要作用。骨微环境中的物理因素包括缺氧、高钙、酸中毒等也为肿瘤生长提供适宜的条件。本文主要从分子水平阐述肿瘤骨转移过程中涉及到的肿瘤细胞与骨微环境之间的相互作用。

[关键词] 肿瘤;骨转移;骨微环境;细胞因子

[中图分类号] R730.2; R738.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)04-0422-05

恶性肿瘤骨转移发生率较高,由此引起的并发症较多,治疗困难,是临床上的一个突出问题。癌和肉瘤都可以转移到骨骼,其中由癌引起的骨转移更常见,约占80%~90%。引起骨转移的常见肿瘤有乳腺癌(65%~75%)、前列腺癌(65%~75%)、甲状腺癌(60%)、膀胱癌(40%)、肺癌(30%~40%)、肾癌(20%~25%)和恶性黑色素瘤(14%~45%)等^[1]。临床上,晚期骨转移常导致局部剧烈疼痛、病理性骨折、威胁生命的高钙血症、脊髓压迫引起的神经症状,严重影响患者的生存质量,同时也是导致死亡的重要因素。肿瘤的转移是多个因素共同作用的结果,这些环节包括肿瘤细胞间失去黏附能力、肿瘤细胞对基底组织的侵袭和进入特定组织的归巢能力;肿瘤细胞还通过对骨微环境的影响而产生成骨性和破骨性骨损伤。因此对转移性骨肿瘤发生机制的认识就显得十分重要,有可能为癌症骨转移的预防和治疗提供新的思路。

1 肿瘤骨转移和骨微环境

肿瘤骨转移可以分为两种典型类型:溶骨型和成骨型。绝大多数转移性骨肿瘤是两种类型的混合。乳腺癌骨转移患者中80%以上以溶骨病损为主^[2]。在溶骨性改变的同时存在继发性新生骨形成,为以后的成骨提供了必要的空间、营养物质和钙离子。前列腺癌骨转移病损绝大部分为成骨型,但在成骨性病灶中骨吸收反应同样存在,只是由于骨塑形过程中成骨性病损占主导地位,而最终导致骨硬化。无论那种骨性改变引起严重并发症均增加了疾病的病死率,降低了患者的生活质量。

为什么骨是肿瘤的常见远处转移部位之一?1889年Paget等^[3]提出了著名的“种子-土壤”假说,即癌细胞与骨微环境之间存在着特异性的相互作用,很好

地解释了肿瘤的骨转移倾向性。虽然癌细胞可以向全身器官组织转移,但由于骨质局部环境中产生的细胞因子会增加其对骨髓基质细胞的趋向和黏附能力,从而使之更容易形成转移灶。

原发灶癌细胞生长相对较缓慢,而一旦转移到骨,黏附到骨髓内皮细胞,就会加速生长,骨微环境可以提供适合瘤细胞生存、生长的因子。有些学者提出了“恶性循环(vicious cycle)^[4]”和“骨拟态(osteomimicry)^[5]”的观点。以前列腺癌为例,前者是指转移的前列腺癌细胞分泌甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)作为主要刺激溶骨反应的重要因子,另外瘤细胞分泌的IL-6、TNF、M-CSF等也增加细胞表面核转录因子 κ B受体启动子配体(RNAKL)的表达,进而作用于溶骨细胞前体细胞,诱导溶骨反应的发生和骨质吸收。而骨质吸收过程中伴有TGF- β 、IGF、骨形态形成蛋白等的释放,反过来刺激PTHrP的分泌增加,并刺激肿瘤生长。后者是指进入骨组织的前列腺癌细胞,因在脱离雄激素的作用下能继续生长,瘤细胞进入骨骼后,在细胞因子的调节下,瘤细胞和骨基质中均表达RANKL和骨保护素,且显著上升。

2 肿瘤骨转移和生长因子

骨微环境通过改变肿瘤细胞的表型推进转移性损伤在肿瘤骨转移的恶性循环中起了关键性的作用。骨基质中富含的许多生长因子,如TGF- β 、IGF-I和IGF-II

[基金项目] 山东省科技厅重点攻关项目(No.2006GG3202010)。Supported by the Key Project of Shandong Scientific and Technology Commission (No.2006GG3202010)

[作者简介] 初云霞(1981-),女,山东省威海市人,硕士研究生,主要从事肿瘤内科学方面的研究

*通信作者(Corresponding author)。E-mail:wangxw12@yahoo.com

II等,通过溶骨性作用被释放同时又刺激骨及肿瘤细胞的增殖。骨基质的低氧、酸性 pH、细胞外较高钙离子浓度等物理因素创造了适合肿瘤生长的环境。缺氧、酸中毒、高钙与生长因子如 TGF- β 、IGFs 等相结合促使了骨转移恶性循环的形成。

2.1 生长因子

溶骨性骨破坏释放钙及生长因子到骨基质中。释放的蛋白质 90% 由胶原蛋白组成,剩下的 10% 是 TGF- β 、IGFs、成纤维细胞生长因子(FGF)、血小板源性生长因子(PEG-F)及骨形态发生蛋白(BMP)^[6]。所有的这些因子都可作用于转移细胞,它们在骨吸收触发作用下受到释放并启动,从而为转移瘤细胞提供了生长、繁殖的良好土壤。

TGF- β 是骨组织中最重要的一种生长因子,经证实它具有直接的促肿瘤细胞生长作用,并在维持骨形成和骨破坏的动态平衡中发挥重要作用^[7]。其在肿瘤的发生、发展中具有双重作用:在肿瘤发生的起始阶段 TGF- β 起着抑癌的作用;在进展期 TGF- β 可以促进肿瘤血管新生,诱导有利于肿瘤浸润转移的微环境形成。TGF- β 有 3 种受体(T β R I、T β R II、T β R III)均为受体丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)激酶,两者形成异源二聚体。T β R I 和 T β R II 在 TGF- β 的信号转导中都是必不可少的。

TGF- β 信号通路关键的信号转导分子为胞质蛋白 Smads^[8]。Smads 可将 TGF- β 信号由胞膜受体转导入胞核内,是受体激酶介导的细胞内信号转导途径。TGF- β -Smad 信号通路中各型 Smads 分子之间精密协调,共同完成生理及病理状态下 TGF- β 的生物学效应。

TGF- β 在肿瘤细胞中可诱导表达 VEGF、金属蛋白酶 MMP-2 和 MMP-9,负调控金属蛋白酶抑制因子,从而提供蛋白酶丰富的微环境,有利于肿瘤细胞的迁移和浸润适当的血管上皮细胞,直接或间接促使肿瘤细胞的转移。

骨基质中的 TGF- β 可刺激肿瘤细胞过度表达 PTHrP^[9],PTHrP 又刺激骨髓基质细胞高表达 RANKL,从而刺激了破骨细胞的骨吸收活动。这个恶性循环导致了更进一步的骨破坏。PTHrP 在正常细胞和恶性细胞中均表达,具有与甲状旁腺激素相似的生物活性。Saito 等^[10]在乳腺癌骨转移的裸鼠模型中,使用 PTHrP 单克隆抗体能显著地抑制骨转移进程和溶骨性骨吸收。转染显性负相 dn T β R II 的乳腺癌细胞减少了 TGF- β 介导的 PTHrP 表达和骨转移,而表达 dn T β R II 的 MDA-MB-231 细胞过表达 PTHrP 能恢复骨转移。这说明了 TGF- β 和 PTHrP 在肿瘤进程中有重要作用。临床研究发现乳腺癌患

者中,将近 50% 高钙血症患者的血清 PTHrP 表达水平升高。总之,PTHrP 是乳腺癌和其他一些实体恶性肿瘤骨转移病灶溶骨性病变的主要介导因子。

PTHrP 并非受 TGF- β 调节的唯一因子,87% 的骨转移患者表达环氧合酶-2(COX-2)^[11],其在骨转移中通过 MDA-MB-231 细胞的表达远高于正常生长细胞中的表达。TGF- β 增加了 COX-2 在成骨细胞、骨基质细胞及乳腺癌细胞中的表达。受 TGF- β 处理的 MDA-MB-231 细胞限制的介质可诱导破骨细胞的形成,此过程被 COX-2 抑制剂 NS-398 抑制。抑制剂 NS-398、尼美舒利及 MF 减少肿瘤与骨界面破骨细胞的数目,以及嫁接 MDA-MB-231 细胞的小鼠身上的肿瘤负荷。MDA-MB-231 细胞骨靶向亚克隆中 COX-2 的过度表达与 IL-8 的增加有关。IL-8 独立于 RANK 配体通路之外诱导破骨细胞形成和活性,亦能诱导 IL-11。IL-11 可以经 RANK 配体和粒集落细胞刺激因子作用于破骨细胞。然而,在缺少其他促转移因子(如骨桥蛋白、结缔组织生长因子和趋化因子受体 4)的条件下 IL-11 的过度表达不增加骨转移的发生^[12]。

IGF- I 和 IGF- II 是骨骼中含量最多的蛋白,并在骨的形成过程中扮演重要角色^[13]。IGF 信号在癌症和转移过程中亦起重要作用,它促进细胞转化和血管生成,诱导细胞增殖和浸润,并且是抗调亡的。IGFs 均通过作用于 IGF- I R 维持细胞的生长,它们对骨转移的贡献还未被实验证实。不同 MDA-MB-231 细胞的骨靶向亚克隆改变了在迁移和非停滞性生长应答中 IGF- I 的敏感性,可能归因于亲代细胞相关的 IGF- I R 表达的增加。前列腺癌骨转移的患者活检发现,IGF- I R 及受体底物 IRS-1 均有增加。在将成神经细胞瘤细胞直接注入小鼠的胫骨后,肿瘤细胞中 IGF- I R 稳定的过度表达加速了肿瘤的生长及溶骨性破坏^[14]。用 MDA-MB-231 细胞表达的能降低骨转移的显性失活 IGF- I R 可以获得相似的结果。当把 MDA-PCA-2b 前列腺癌细胞注入人骨移植的 NOD/SCID 小鼠体内,中和抗人 IGF- I 或抗鼠及人 IGF- II(而不抗鼠 IGF- I)抗体,降低了骨损伤的发展^[15]。然而改造的 IGF- I 的过度表达对前列腺癌骨转移的两个模型未起作用。骨转移的发展依赖癌细胞对由各种生长因子组成的骨微环境的反应,还包括缺氧,低 pH 和高钙。

3 肿瘤骨转移和骨微环境的物理特性

3.1 缺氧

缺氧是肿瘤转移的一个主要条件,可调节分泌

那些促肿瘤细胞增殖和扩散的产物,同时也是原发肿瘤放、化疗抵抗的重要原因。实体瘤对缺氧极为敏感,原因是其增殖速度快,导致产生畸形的脉管系统从而不能满足膨胀肿瘤增加的代谢需求。骨骼拥有潜在肿瘤转移及生长能力的缺氧微环境。缺氧调节正常骨髓造血和软骨细胞分化。癌细胞可在缺氧的骨微环境中存活,同时参与骨转移的恶性循环。

缺氧信号由乏氧诱导因子-1(HIF-1)介导,转录因子是由HIF-1 α 和HIF-1 β 组成的异二聚体。HIF-1 β 是基本表达的,而HIF-1 α 的表达则是反应缺氧程度的。正常条件下氧赖脯氨酰羟化酶在氧依赖降解区域特定残端修饰HIF-1 α 。由E3泛素蛋白连接酶组成的von Hippel-Lindau肿瘤抑制物可识别并降解羟化的HIF-1 α ^[16]。当氧含量降低时,HIF-1 α 不再被脯氨酰羟化酶识别,相反和HIF-1 β 结合成异二聚体,此异二聚体进入细胞核与DNA中缺氧反应点结合并介导大量的缺氧反应基因的转录。

原发肿瘤中若癌细胞处于低氧状态则缺氧信号增加。被HIF-1调节的缺氧反应基因包括糖分解酶、葡萄糖载体及血管内皮生长因子(VEGF),其它包括那些涉及组织重建/迁移/侵入、凋亡、应力应答、增殖/分化以及生长因子/细胞因子作用的基因以一种细胞型特定方式表达。其中许多是转移前存在的,提示缺氧信号在骨转移的恶性循环中发挥一定作用。在13种不同类型肿瘤中,包括肺癌、乳腺癌、前列腺癌和结肠癌,所有已检出有淋巴结和骨转移的有HIF-1 α 过度表达的占2/3,其中乳腺癌原发瘤中HIF-1 α 的过度表达占29%,而转移瘤有69%^[17],提示HIF-1 α 的过度表达与肿瘤的侵袭转移相关。

在体外,HIF-1 α 的过度表达与人前列腺癌细胞的侵袭性相关,可加强对癌细胞的迁移和侵入有重要作用的波形蛋白、组织蛋白酶K及MMP-2的表达,同时降低维持细胞间连接与黏附的E-钙黏着蛋白的水平。波形蛋白和E-钙黏着蛋白涉及肿瘤转移进展早期上皮间叶间的转变。通过上调这些蛋白,HIF-1改变了肿瘤细胞的表型并增加了其转移的能力。

正常条件下,HIF-1 α 的稳定性受各种生长因子和激酶通过磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶B(Akt)和丝裂原活化蛋白激酶信号通路的调节。IGFs、成纤维生长因子、表皮生长因子(EGF)和肿瘤坏死生长因子- α 已被证实可稳定HIF-1 α ,癌细胞中这些因子的表达与超强的增殖及肿瘤的播散密切相关。

有些学者已经证实了缺氧和生长因子信号通路

之间的相互关系。正常条件下,表皮生长因子受体(EGFR)信号通路可激活HIF-1 α 介导的survivin的转录,survivin是一种可增加人类乳腺癌细胞凋亡抵抗的蛋白,从而使癌细胞表型更具侵袭性^[18]。HIF-1 α 与TGF- β 信号通路之间也存在相互关系,TGF- β 通过选择性抑制酰羟化酶2和降低HIF-1 α 的降解,从而增强缺氧信号。TGF- β 在骨转移致骨损伤中具有重要地位,在缺氧的条件下TGF- β 可加强HIF-1信号。

作为肿瘤侵袭转移的调节物,缺氧信号通路是一个重要的化疗靶点,抑制这一通路可以预防HIF介导的化、放疗抵抗。2-甲氧基雌二醇为抑制物之一,可降低HIF-1 α 水平和体外血管内皮生长因子mRNA的表达,同时可诱导肿瘤细胞的凋亡。2-甲氧基雌二醇正在多种癌症I、II期临床试验中被评估,同时许多有抗血管生成和抗肿瘤效应的类似物也已被证实。其他小分子抗缺氧物包括拓扑异构酶I和II(如喜树碱、GL331)和磷脂酰肌醇-3激酶抑制物(如LY294002)已表明可抑制HIF介导的基因转录^[19]。由于HIF-1与多种信号通路的相互关系,单独抑制缺氧信号可能不能充分终止肿瘤的生长和扩散。然而,小分子抑制物与其他治疗结合可能对终止癌症转移的恶性循环有效。

3.2 酸性pH

骨微环境的酸中毒也加强了骨转移的恶性循环,细胞外pH在成骨和破骨损害中有重要作用。当细胞外pH<6.9时,破骨细胞可被最大限度地刺激,同时成骨细胞和骨形成受到严重的消减^[20]。成骨细胞和破骨细胞的结合效应使得骨骼中碱性骨矿物质释放,从而补偿系统的酸中毒。

肿瘤的转移导致骨骼内局部的酸中毒^[21]。原发肿瘤中增殖癌细胞的糖酵解和乳酸的产生及间质液缓冲作用的降低促成了酸性的微环境。酸环境介导的肿瘤侵入改变了癌细胞的糖代谢,刺激了癌细胞的增殖,从而导致更具侵袭性的细胞表型。酸中毒改变肿瘤和正常组织交界面细胞的动力学,通过释放蛋白水解酶促进邻近细胞的凋亡及细胞外基质的降解。癌细胞不同于正常细胞,甚至在细胞外pH较低的情况下也有允许增殖和转移的补偿机制,因而对酸环境诱导的凋亡并不敏感。

通过HIF介导的糖酵解酶的过度表达和乳酸产物的增加,缺氧更进一步促进肿瘤细胞的酸中毒。缺氧和pH共同调节机制控制肿瘤细胞的存活与增殖。E1a/Ras转换的小鼠胚胎成纤维细胞凋亡由缺氧引起的酸中毒诱导而非单独缺氧效应直接引

起^[22]。

缺氧介导的酸中毒激活肿瘤细胞中许多应激信号瀑布,包括核因子- κ B 和活化蛋白-1 通路,它们依次调节转移前因子的转录,如 IL-8。IL-8 是一种细胞运动、增殖及血管生成的重要细胞因子。在胰腺癌及前列腺癌细胞中,IL-8 的表达受缺氧和降低细胞间的 pH 所介导^[23]。在包括乳腺癌和前列腺癌在内的一些肿瘤中其过度表达与肿瘤分级与转移相关。

缺氧和酸中毒与肿瘤的放化疗抵抗有关。细胞外 pH 梯度产生对化疗的抵抗,从而预防细胞内弱碱性药物(如阿霉素)的累积。因此,靶向缺氧信号可能通过纠正癌细胞的 pH 而发挥效应,该治疗方法可增加常规放、化疗的敏感性。

3.3 钙离子浓度

矿化的骨基质释放的钙从几个方面促进了肿瘤转移的恶性循环的形成。钙是骨基质的基本组分,在骨微环境中钙离子浓度维持在较窄的范围内(1.1~1.3 mmol/L)。破骨性骨损害可引起胞外钙离子浓度升高到 8~40 mmol/L。

钙离子通过胞外钙离子敏感受体(CaSR)介导发挥作用。CaSR 是一种 G 蛋白偶联受体,在高钙条件下可抑制 AMP 循环激活磷脂酶 C。CaSR 可在正常组织中表达,而在乳腺癌及前列腺癌等肿瘤中过度表达。CaSR 调节 PTHrP 的分泌,PTHrP 在溶骨性骨破坏及骨转移的作用在前文已述。在正常的乳腺上皮细胞中通过增高的 PTHrP、CaSR 对低钙有反应,高钙或 CaSR 激动剂使 PTHrP 减少。不同于正常的乳腺上皮细胞,乳腺癌细胞分泌高水平 PTHrP 应答已知的 CaSR 激动剂:高钙、精胺和新霉素等。在前列腺癌中也发现相似的效应,前列腺癌细胞中 CaSR 显性失活的表达阻止钙离子刺激的 PTHrP 的释放,而 TGF- β 预处理增加基本的和钙离子刺激的 PTHrP^[24]。因此,骨转移的恶性循环包括 CaSR 的作用,TGF- β 和溶骨性骨破坏释放的 Ca^{2+} 激活 CaSR,从而增加 PTHrP 的释放,保持骨质溶解和骨基质的破坏。

经证实,当 Ca^{2+} 浓度达 2.5 mmol/L 时可明显诱导 PC-3 和 C4-2B 前列腺癌细胞的骨转移,而对 LNCaP 前列腺上皮细胞无效,此效应可能由 CaSR 介导。在体外,通过 shRNA 敲除 CaSR 可降低 PC-3 细胞的增殖,并且抑制小鼠体内骨转移的形成。临床上,乳腺癌样本中胞质 CaSR 的过度表达与骨转移正相关,而非脏器转移,提示 CaSR 可能是预测骨转移的一个好指标^[25]。

在体外,CaSR 激活 Akt 信号促进 PC-3 细胞的附着。同样地,骨基质中的钙可通过这些受体帮助癌细胞在转移过程中定位并附着到骨。CaSR 部分通过丝裂原活化蛋白激酶信号通路刺激 PTHrP 的释放。丝裂原活化蛋白/细胞外信号调节激酶激酶抑制物,p38 丝裂原活化蛋白激酶,蛋白激酶 C 及 c-JUN-NH2 激酶通过 HEK293 和 H-500 Leydig 癌细胞对高钙的应答阻止了钙离子刺激的 PTHrP 的释放^[26]。EFK1/2、p38 丝裂原活化蛋白激酶及 SEK1 (c-JUN-NH2 激酶的上游激酶)增加的磷酸化作用促进 Ca^{2+} 对 CaSR 的活化。

G 蛋白偶联受体激活酪氨酸激酶受体并激活丝裂原活化蛋白激酶信号瀑布^[27]。CaSR 和 EGFR 信号通路相互作用刺激 PTHrP 的释放。高钙导致 PC-3 细胞外信号调节激酶磷酸化作用的延迟。EGFR 激酶的抑制物或 EGFR 中和抗体阻止细胞外信号调节激酶磷酸化作用并减少 PTHrP 分泌,解答了 CaSR 如何激活 EGFR 的机制。从而可以解释在前列腺上皮细胞中 EGFR 诱导 PTHrP 的结论。吉非替尼和 PKI166 等 EGFR 抑制剂诱导破骨细胞生成和恶性骨溶解以及癌细胞在骨内的生长,提示 EGFR 在骨转移的恶性循环中可能是一个重要的靶点。

靶向 CaSR 的治疗药物有两类:一类为钙受体激动剂(calcimimetic,包括 cinacalcet),可增加 CaSR 对 Ca^{2+} 的亲合性,同时抑制 PTH 或 PTHrP 的释放,从而降低血清钙浓度。钙受体激动剂已证实可用于治疗终末期慢性肾病患者继发性甲状旁腺功能亢进以及甲状旁腺癌^[28]。另一类为钙受体拮抗剂(calcilytics),其为一类新的促进骨形成药物,能拮抗甲状旁腺的钙受体,刺激内源性 PTH 瞬时分泌,进而刺激骨形成。尽管还未被临床证实,但 calcimimetic 和 calcilytics 可能通过干扰骨转移的恶性循环起到对骨转移的预防和治疗作用。

4 结 语

肿瘤细胞和骨微环境之间的相互关系促进了骨转移的恶性循环,此种关系的发生由多种因子和信号通路促成。骨微环境包括许多物理因素,如缺氧、酸中毒和细胞外钙离子以及如 TGF- β 等生长因子等。这些因子在癌细胞中激活信号通路,促进更有侵袭性癌细胞表型的发生。尽管这些因子在原发肿瘤的作用已被证实,但在骨转移中进一步阐述其作用的后续研究仍是必要的。理解肿瘤与骨转移之间的相互关系对识别化疗干预潜在靶点,从而终止肿瘤生长和骨转移具有一定的帮助。

[参考文献]

[1] Coleman RE. Skeletal complications of malignancy [J]. *Cancer*, 1997, 80(Suppl):1588-1594.

[2] Coleman RE, Seaman JJ. The role of zoledronic acid in cancer: clinical studies in the treatment and prevention of bone metastases [J]. *Semin Oncol*, 2001, 28(2 Suppl 6): 11-16.

[3] Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1889, 8(2): 98-101.

[4] Iguchi H. Molecular mechanism and potential targets for bone metastasis [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2007, 34(1): 1-10.

[5] Penno H, Silfversward CJ, Frost A, *et al.* Osteoprotegerin secretion from prostate cancer is stimulated by cytokines *in vitro* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293(1): 451-455.

[6] Mohan S, Baylink DJ. Bone growth factors [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1991, (263): 30-48.

[7] Massagué J. TGF-beta in cancer [J]. *Cell*, 2008, 134(2): 215-230

[8] 张文岚,邢德利,李广生. Smad 蛋白家族与 TGF-β 信号传导 [J]. *深圳中西医结合杂志*, 2003, 13(3): 178-180.

[9] Tenta R, Sourla A, Lembessis P, *et al.* Bone-related growth factors and zoledronic acid regulate the PTHrP/PTH. 1 receptor bio-regulation systems in MG-63 human osteosarcoma cells [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(1A): 283-291.

[10] Saito H, Tsunenari T, Onuma E, *et al.* Humanized monoclonal antibody against parathyroid hormone-related protein suppresses osteolytic bone metastasis of human breast cancer cells derived from MDA-MB-231 [J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(6B): 3817-3823.

[11] Singh B, Berry JA, Shoher A, *et al.* COX-2 involvement in breast cancer metastasis to bone [J]. *Oncogene*, 2007, 26(26): 3789-3796.

[12] Kang Y, Siegel PM, Shu W, *et al.* A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone [J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(6): 537-549.

[13] Durai R, Davies M, Yang W, *et al.* Biology of insulin-like growth factor binding protein-4 and its role in cancer [J]. *Int J Oncol*, 2006, 28(6): 1317-1325.

[14] van Golen CM, Schwab TS, Kim B, *et al.* Insulin-like growth factor-I receptor expression regulates neuroblastoma metastasis to bone [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(13): 6570-6578.

[15] Goya M, Miyamoto S, Nagai K, *et al.* Growth inhibition of human prostate cancer cells in human adult bone implanted into nonobese diabetic/severe combined immunodeficient mice by a ligand-specific antibody to human insulin-like growth factors [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(17): 6252-6258.

[16] Lauzier MC, Michaud MD, Déry MA, *et al.* HIF-1 activation during tumor progression: implications and consequences [J]. *Bull Cancer*, 2006, 93(4): 349-356.

[17] Nadaoka J, Horikawa Y, Saito M, *et al.* Prognostic significance of HIF-1alpha polymorphisms in transitional cell carcinoma of the bladder [J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(6): 1297-1302.

[18] Lee DH, Lee YJ. Quercetin suppresses hypoxia-induced accumulation of hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) through inhibiting protein synthesis [J]. *J Cell Biochem*, 2008, 105(2): 546-553.

[19] Powis G, Kirkpatrick L. Hypoxia inducible factor-1alpha as a cancer drug target [J]. *Mol Cancer Ther*, 2004, 3(5): 647-654.

[20] Nagae M, Hiraga T, Yoneda T. Acidic microenvironment created by osteoclasts causes bone pain associated with tumor colonization [J]. *J Bone Miner Metab*, 2007, 25(2): 99-104.

[21] Arnett T. Regulation of bone cell function by acid-base balance [J]. *Proc Nutr Soc*, 2003, 62(2): 511-520.

[22] Shannon AM, Bouchier-Hayes DJ, Condrón CM, *et al.* Tumour hypoxia, chemotherapeutic resistance and hypoxia-related therapies [J]. *Cancer Treat Rev*, 2003, 29(4): 297-307.

[23] Maxwell PJ, Gallagher R, Seaton A, *et al.* HIF-1 and NF-kappaB-mediated upregulation of CXCR1 and CXCR2 expression promotes cell survival in hypoxic prostate cancer cells [J]. *Oncogene*, 2007, 26(52): 7333-7345.

[24] Sharan K, Siddiqui JA, Swarnkar G, *et al.* Role of calcium-sensing receptor in bone biology [J]. *Indian J Med Res*, 2008, 127(3): 274-286.

[25] Mihai R, Stevens J, McKinney C, *et al.* Expression of the calcium receptor in human breast cancer-a potential new marker predicting the risk of bone metastases [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2006, 32(5): 511-515.

[26] MacLeod RJ, Chattopadhyay N, Brown EM. PTHrP stimulated by the calcium-sensing receptor requires MAP kinase activation [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003, 284(2): E435- E442.

[27] Hendriks-Balk MC, Peters SL, Michel MC, *et al.* Regulation of G protein-coupled receptor signalling: focus on the cardiovascular system and regulator of G protein signalling proteins [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 585(2-3): 278-291.

[28] Brown EM. Clinical lessons from the calcium-sensing receptor [J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2007, 3(2): 122-133.

[收稿日期] 2009 - 04 - 27 [修回日期] 2009 - 07 - 15
 [本文编辑] 王莹

本期广告目次

沈阳三生制药有限责任公司	封二
东胜创新生物科技有限公司	封三
碧迪医疗器械有限公司	封四
德国美天旎生物技术有限公司	前插页 I
浙江康莱特药业有限公司	前插页 II
上海医元生物基因发展有限公司	后插页 II