

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00191

乳腺癌中雌激素受体 α 表达水平调节的分子机制

程龙, 黄翠芬, 叶棋浓

军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100850

摘要: 雌激素受体 α (ER α)在乳腺癌的发生发展中扮演重要角色, 因而 ER α 成为乳腺癌治疗的分子靶标。ER α 的表达水平在乳腺癌患者中差异较大, 即使同一患者, 在乳腺癌的不同阶段也可能有很大的差别。乳腺癌内分泌治疗的疗效以及预后都与 ER α 表达水平密切相关。影响 ER α 表达水平的分子机制复杂, 众多调节分子在染色质、转录、转录后、翻译和翻译后等水平参与 ER α 表达水平的调节。在染色质和转录水平, 许多分子通过直接或间接地与 ER α 启动子的相互作用改变 ER α 的转录; 在转录后/翻译水平, 一些 microRNA 通过诱导 ER α mRNA 的降解和/或抑制其翻译降低 ER α 的水平; 在翻译后水平, 许多分子通过泛素-蛋白酶体途径调节 ER α 蛋白水平。文章从不同水平, 对这些调节分子的调节机制进行简要综述。

关键词: 乳腺癌; 基因表达调控; 雌激素受体 α

Molecular mechanisms of regulation of estrogen receptor α expression level in breast cancer

CHENG Long, HUANG Cui-Fen, YE Qi-Nong

Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

Abstract: Estrogen receptor α (ER α) plays an important role in breast cancer development and progression and thus becomes a useful molecular target for breast cancer therapy. ER α is differentially expressed in breast cancer patients. Moreover, ER α expression levels may change at different stages of breast cancer even for the same patient. ER α expression is closely associated with the effect of endocrine therapy and prognosis. The mechanisms underlying ER α expression are complicated, because ER α expression is regulated at different levels, including chromatin, transcriptional, post-transcriptional, translational, and post-translational levels. Many proteins modulate the transcription of ER α gene at the chromatin and transcriptional levels through direct or indirect interaction with the ER α promoter. Some microRNAs decrease ER α levels possibly by induction of the degradation of ER α mRNA and/or repression of the mRNA translation. At the post-translational level, many proteins regulate ER α protein levels through ubiquitin-proteasome pathway. This review focuses on molecular mechanisms of regulation of ER α expression at different levels.

Keywords: breast cancer; gene expression regulation; estrogen receptor α

乳腺癌是妇女中最常见的恶性肿瘤之一。目前研究认为, 雌激素(E2)在乳腺癌发生发展过程中起

重要作用, 它通过与雌激素受体(ER)的结合, 激活含雌激素应答元件(ERE)基因和含有其他转录因子

收稿日期: 2009-11-24; 修回日期: 2010-02-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30530320, 30625035)资助

作者简介: 程龙(1983-), 男, 博士生, 研究方向: 肿瘤分子生物学。E-mail: flonic@163.com

通讯作者: 叶棋浓(1967-), 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 肿瘤分子生物学。E-mail: yeqn66@yahoo.com

结合元件基因的表达, 这些基因参与调控细胞的增殖和分化, 进而与乳腺癌的发生和发展密切相关^[1,2]。ER分为ER α 和ER β , 其中对ER α 的研究一直是乳腺癌研究的热点。ER α 定位于6号染色体, 由595个氨基酸组成, 属于核受体超家族成员。正常人乳腺组织中ER α 表达水平较低, 平均为4 fmol/mg。肿瘤发生后, 根据ER α 表达水平的高低可以将乳腺癌病人分为ER α 阳性和ER α 阴性两类, 早期的乳腺癌病人大约有60%为ER α 阳性, 癌组织中ER α 表达升高, 可以达到100 fmol/mg, 其中2/3的病人在内分泌治疗有效。超过1/3的早期病人为ER α 阴性, 癌组织中几乎检测不到ER α 的表达。而且随着肿瘤的发展, 部分ER α 阳性病人可能转变为ER α 阴性, 同时内分泌治疗也失去疗效^[3]。由此可见, ER α 表达水平不仅在不同的乳腺癌病人中差异较大, 即使同一个病人, 在肿瘤的不同阶段也可能有很大差别。因此, 研究乳腺癌发生发展过程中ER α 表达水平的调节机制对于乳腺癌的诊断与治疗有重要意义。

已经发现的能够调节ER α 表达水平的分子较多, 调节机制也各不相同, 大致可以分为染色质水平的调节, 转录水平的调节, microRNA的调节以及翻译后水平的调节。本文从不同水平对乳腺癌中ER α 的调节机制做一综述。

1 染色质水平的调节

基因在染色质水平的调节包括启动子甲基化、组蛋白修饰、染色质重组等, 对ER α 的研究主要集中在ER α 启动子甲基化和组蛋白去乙酰化等方面。

1.1 ER α 启动子甲基化

DNA甲基化是指在DNA甲基转移酶(DNMT)的作用下, 将甲基基团转移到DNA分子上未甲基化的胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(CpG)二核苷酸中的胞嘧啶的5'碳原子上。CpG二核苷酸在基因组中呈非随机分布, 某些CpG含量>50%, 长度>200 bp的DNA序列称之为CpG岛。CpG岛常位于基因启动子区, 正常细胞的CpG岛多处于非甲基化状态, 但在细胞发生癌变时某些抑癌基因启动子区的CpG岛发生甲基化。启动子区域的甲基化通常导致该基因的表达下调。

研究发现, 正常乳腺组织和ER α 阳性的乳腺癌细胞系中ER α 启动子没有甲基化或甲基化程度较低,

ER α 阴性的乳腺癌细胞系中ER α 启动子存在广泛的甲基化^[4-6]。同时, ER α 阴性乳腺癌细胞系中DNMT1的水平和活性增长了2~10倍^[5], Lapidus等^[4]用甲基化特异性PCR方法绘制了ER α 启动子的CpG岛图谱, 并指出ER α 启动子甲基化水平和ER α 蛋白表达水平呈负相关。进一步研究发现, ER α 阴性细胞经过甲基化抑制剂5-aza-2'-cytidine (5-aza-dC)处理后, 可以使一部分ER α 启动子去甲基化, ER α mRNA和ER α 蛋白重新合成^[7-8]。在ER α 阴性的乳腺癌细胞MDA-MB-231和Hs578t中, 应用反义核酸技术和RNAi技术抑制DNMT1, 同样可以使ER α 表达, 并且表现出雌激素应答, 说明表达的ER α 蛋白是有生理功能的^[9]。

1.2 组蛋白去乙酰化

研究发现, ER α 阴性的乳腺癌细胞中, 在ER α 启动子甲基化的同时, 组蛋白去乙酰化对于ER α 的缺失也有重要的作用。组蛋白去乙酰化酶(HDAC)可以使组蛋白H3和H4的赖氨酸去乙酰化, 使核小体结构更加紧密而抑制基因转录。ER α 阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231经过HDAC的抑制剂TSA处理后, ER α mRNA以剂量依赖的方式合成, Western blotting也检测到ER α 蛋白的表达^[8]。ER α 阳性的MCF-7细胞中过量表达HDAC可以使ER α 转为阴性, 加入HDAC抑制剂后ER α 又回复为阳性^[10]。最新的研究发现, 正常乳腺上皮恶变为原位癌过程中, 组蛋白乙酰化水平显著下降, 恶变为ER α 阴性细胞比恶变为ER α 阳性细胞降低程度更大^[11]。以上实验虽然进一步说明, 组蛋白乙酰化程度与ER α 表达以及乳腺癌发生密切相关, 但不能解释组蛋白乙酰化程度的下降与ER α 阳性的乳腺癌中ER α 升高的关系。

越来越多的研究集中在DNA甲基化和组蛋白乙酰化的联系上, 有文献报道DNMT可以和HDAC形成复合物^[12], MeCP2(methy-CpG-binding domain protein 2)在DNA甲基化和组蛋白甲基化或去乙酰化之间起桥梁作用, 它能够将甲基化的DNA和甲基化或去乙酰化的组蛋白连接起来, 使这两种修饰更加稳固, 从而进一步抑制基因转录^[13,14]。MDA-MB-231细胞中, DNMT、HDAC、MeCP2均与ER α 启动子沉默有关^[15], Keen等^[16]将HDAC特异性的抑制剂scriptaid和甲基化抑制剂5-aza-dC联合应用于ER α 阴

性的乳腺癌细胞后,发现ER α 的表达水平明显高于单独使用这两种抑制剂的ER α 水平。进一步研究发现,HDAC1、DNMT1和MeCP2从ER α 启动子上释放出来,从而促进ER α 的转录。研究发现,ER α 阴性细胞MDA-MB-435经过5-aza-dC和TSA共同处理后,细胞表现出对激素治疗有效^[17]。

2 转录水平的调节

转录调节是基因表达调控的重要方式,由顺式作用元件和反式作用因子共同参与,二者结合后通过调节基因的转录起始频率来调节基因的转录水平。

2.1 两段不同的启动子参与ER α 转录

已经发现正常乳腺和乳腺癌中有两段不同的启动子参与ER α 的转录^[18~20],分别为Promoter A和Promoter B, Promoter B位于Promoter A的上游2 kb左右,两段启动子参与转录的起始位点不同,但两种转录产物只是在5'端非翻译区有所不同,而且mRNA表达的是同一种蛋白。乳腺癌细胞系中两种启动子均有参与,不同的细胞系两种启动子的比例也各有不同,而对乳腺癌组织的研究发现,乳腺癌组织中的ER α 转录主要是由Promoter B参与^[21]。

2.2 转录因子的调节

转录因子发挥功能是通过结合于基因启动子上的特异序列,进而改变转录起始的频率来实现的。在对ER α 调节机制进行研究时,发现转录因子在调节ER α 时不仅可通过上述机制,而且可通过其他机制来发挥作用。按作用机制可将这些调节分子分为两类:(1)通过蛋白质-DNA相互作用发挥调节功能,包括AP-1、FOXO3a、FOXMI、AP2 γ (ERF-1)、ERBF-1等;(2)通过其他方式发挥调节功能,如p53和XBP-1。

2.2.1 通过蛋白质-DNA相互作用发挥调节功能

Tang等^[22]发现ER α 启动子的-3.7 kb有一段35 bp的区域,在ER α 阳性细胞MCF7中活性大大高于ER α 阴性细胞MDA-MB-231。进一步研究发现AP-1作为转录因子可结合在这段增强子上。ER α 阳性的NF639和T47D细胞中,FOXO3a结合于ER α 启动子上的两个区域,能够升高ER α 的启动子活性和表达,而在ER α 阴性的Hs578T细胞中,这种结合较

弱。由于FOXO3a受到Her2/PI3K/Akt的负调控,在相当一部分乳腺癌中,ER α 和Her2是负相关的,因此,FOXO3a可能是介导Her2和ER α 负相关表达的关键分子^[23]。Forkhead家族另一成员FOXMI也表现出类似的功能,其结合于ER α 启动子上的两个区域与FOXO3a相同,对ER α 的转录进行调节。和FOXO3a有所不同的是,在检测的16种乳腺癌细胞株中,13种细胞FOXMI的表达与ER α 表达正相关,而FOXO3a与ER α 的相关性不明显^[24]。Deconinck等^[25]发现在ER α 阳性乳腺癌细胞中,一个30 kDa大小的分子ERF-1能够结合于ER α 启动子的一段75 bp的增强子区域,而这种蛋白在正常乳腺上皮中未见表达。后来的研究证实了ERF-1为AP-2家族的一个成员-AP2 γ ^[26]。AP2 γ 通过直接结合到ER α 启动子,升高ER α 阳性细胞中ER α 及其下游基因的表达水平。敲低AP2 γ 可以降低E2引起的S期细胞增多,同时抑制肿瘤的生长^[27]。而ER α 阴性细胞中由于ER α 启动子甲基化和组蛋白去乙酰化导致染色质不能伸展,从而阻碍了AP2 γ 与启动子的结合^[28]。Tanimoto等^[29]发现ER α 启动子上一段39 bp的转录增强子区域对于ER α 的启动子活性至关重要,缺失这段区域可以大大降低启动子活性。作用于该增强子的转录因子被命名为ERBF-1,但ERBF-1的确切氨基酸序列还有待进一步研究确证。

2.2.2 通过其他方式发挥调节功能

乳腺癌细胞MCF-7中,用RNAi方法敲低p53的表达能够降低ER α 的表达,过量表达p53获得了与RNAi相对应的结果。进一步研究证实p53对于ER α 的调节发生在转录水平,通过升高ER α promoter A的活性增强ER α 的转录。而且p53发挥作用并不是依赖于直接与ER α 启动子结合,而是通过P53与其他蛋白的相互作用来调节ER α 的表达,而这一蛋白的具体信息和作用机理还有待于进一步研究^[30]。作为转录因子的XBP-1也能够调节ER α 水平。MCF7细胞中,XBP-1能够升高ER α 表达^[31],但其作用机制有待于进一步研究。

3 microRNA的调节

microRNA(miRNA)是一类RNA调节分子,它主要作用于目的RNA的3'非翻译区(3' UTR),通过抑

制翻译或使 RNA 降解来调节基因的表达。ER α mRNA 合成后, microRNA 参与了 ER α 的转录后调节, 在 ER α mRNA 的 3' UTR 找到 2 个 miR206 的结合位点: hER α 1 和 hER α 2, MCF7 中过量表达 miR206 引起 ER α 蛋白的下调, 而且 MB-MDA-231 细胞中, miR206 表达明显高于 MCF7^[32]。进一步研究发现, ER α 阳性的乳腺癌组织中 miR206 表达显著降低, 并且和 ER α mRNA 呈负相关, MCF7 中过量表达 miR206 可以抑制细胞生长^[33]。过量表达 miR221/222 同样可以降低 MCF7 中的 ER α 蛋白水平, 但是不能降低 ER α 的 mRNA 水平, 提示 miR221/222 可能在翻译水平上发挥调节 ER α 的功能。与对照组相比, 过量表达 miR221/222 的 MCF7 和 T47D 细胞表现出内分泌治疗抵抗^[34]。

4 翻译后水平的调节

基因的翻译后修饰包括泛素化、SUMO 化、乙酰化、糖基化、磷酸化、甲基化、NEDD8 修饰等等, 各种翻译后修饰的机制及功能各不相同。本节从调节 ER α 水平的角度出发对泛素化、甲基化、NEDD8 修饰进行综述。

4.1 ER α 的泛素化修饰

泛素化在蛋白质的降解过程中发挥重要作用。真核细胞内蛋白质降解主要有两种途径, 即溶酶体途径和泛素-蛋白酶体途径。泛素作为一种含有 76 个氨基酸的高度保守的蛋白质广泛存在于真核生物中, 在细胞周期、凋亡、代谢调节、免疫应答、信号转导、转录调控、蛋白运输、应激应答、DNA 修复等方面起到了不可替代的作用。ER α 泛素化水平的改变经常偶联转录活性的变化, 按照对 ER α 泛素化水平和其转录活性的调节可以将调节因子分为 5 类: (1) 促进泛素化, 抑制活性, 已经发现的有芳香烃受体 (AhR); (2) 促进泛素化, 升高活性, 如 E2、促性腺激素释放激素 (GnRH)、SRC、AIB1/SRC3、EFP、CHIP、Mdm2 等; (3) 抑制泛素化, 降低活性, 如糖原合成酶激酶 (GSK)3、AKT 等; (4) 抑制泛素化, 升高活性, 如 MUC1; (5) 仅研究泛素化水平的改变, 如 CSN5/Jab1、ERK7、BRCA1、E6AP、钙调节蛋白 (Calmodulin) 等。

4.1.1 ER α 泛素化增强且其转录活性降低

ER α 阳性的乳腺癌细胞 MCF7、T47D 和 ZR75-1 中, 芳香烃受体 (AhR) 在其配体 TCDD 的参与下与 ER α 结合, 并以激素不依赖的方式促进 ER α 通过泛素-蛋白酶体途径降解, 蛋白酶体抑制剂 MG132 可以抑制 AhR 介导的 ER α 的降解。实验证实 AhR 降解的区域位于 ER α 的 AF1 和 AF2 结构域。进一步实验发现, AhR 促进 ER α 通过泛素-蛋白酶体途径降解的同时, 抑制了 ER α 的转录活性^[35]。

4.1.2 ER α 泛素化增强但其转录活性升高

雌二醇 (E2) 可以调控 ER α 的稳定性, 无激素时, ER α 半衰期为 5 d, 有激素时, 半衰期仅为 3 h。E2 介导的 ER α 降解可以被蛋白酶体抑制剂 MG132 所抑制, 这说明 E2 介导的 ER α 降解主要是通过泛素-蛋白酶体途径^[36]。进一步研究发现蛋白酶体抑制剂 MG-132 不但能抑制 ER α 的降解, 而且还能拮抗 ER α 的转录^[37]。研究发现促性腺激素释放激素 (GnRH) 也可以调节 ER α 的表达水平及其转录活性, 在泛素结合酶 UBC4 过量表达的情况下, GnRH 可以促进 ER α 的泛素化降解并且升高转录活性^[38]。

除上述两种激素外, SRC 能够促进 ER α 泛素化, 对早期乳腺癌标本的分析显示 SRC 与 ER α 负相关表达, 在 ER α 阴性或者阳性的乳腺癌细胞中, SRC 抑制剂均能够不同程度地升高 ER α 表达水平, SRC 的抑制剂可以降低 E2 诱导的 ER α 的泛素化和降解^[39]。Shao 等^[40]发现, E2 依赖的 ER α 的降解需要 AIB1/SRC3 的存在, 采用干扰 RNA 的方法阻断 AIB1/SRC3 的表达, 可抑制 E2 依赖的 ER α 降解。此外, 用染色质免疫共沉淀方法证实, 在缺乏 AIB1 表达的情况下, RNA 聚合酶

不能与 ER α 靶基因的启动子结合, 也不能激活转录, 说明 ER α 发挥转录激活功能需要 AIB1 的存在。因而 AIB1 对于 ER α 具有双重作用, 即阻断 AIB1, 同时抑制 ER α 发挥转录激活功能及 ER α 蛋白降解。Nakajima 等^[41]发现 EFP 是 ER α 的泛素化连接酶, 促进 ER α 泛素化的同时升高 ER α 的转录活性。在无配体的情况下, ER α 与分子伴侣 HSP90 稳定结合, Hsp/Hsc70 C 端相互作用蛋白 (Carboxyl-terminus of Hsp/Hsc70 interacting protein, CHIP) 通过其 N 端的 TPR 结构域与 Hsp90 结合; 另一方面它的 U-box 结构域具有 E3 泛素连接酶的性质。

质,能够识别特异底物蛋白ER α ,促进ER α 通过蛋白酶体通路降解^[42]。Hsp90抑制剂促进ER α 的降解也是依赖于CHIP的E3泛素连接酶的作用,CHIP功能的阻断则导致ER α 不能被降解。Duong等^[43]发现p53除了在转录水平发挥调节ER α 的功能外,还能同Mdm2、ER α 形成复合物,在翻译后水平调节ER α 水平。在p53和Mdm2敲除的细胞中导入外源的p53和Mdm2时,可以升高ER α 转录活性。泛素化连接酶Mdm2以E2不依赖的方式促进MCF7细胞中ER α 的降解。

4.1.3 ER α 泛素化减少但其转录活性降低

Grisouard等^[44]发现糖原合成酶激酶(GSK)3与ER α 相互作用,利用RNAi实验证实GSK3通过降低泛素-蛋白酶体途径导致ER α 的降解,从而对ER α 蛋白起保护作用。体外激酶实验显示GSK3敲低后降低E2介导的ER α Ser118磷酸化水平,同时降低ER α 报告基因的活性。Akt1促进ER α 的167位丝氨酸磷酸化而稳定ER α 蛋白,同时通过抑制ER α 结合到其目的基因的启动子降低ER α 的转录活性^[45]。

4.1.4 ER α 泛素化减少且其转录活性升高

MUC1的C端亚基与ER α 的DBD结构域直接结合,并且通过抑制其泛素化降解稳定ER α ,同时参与形成ER α 转录复合物并增强ER α 的转录活性,敲低ZR75-1和MCF7乳腺癌细胞中内源性MUC1可抑制E2依赖的细胞增殖。细胞死亡率检测结果表明,MUC1可增强E2依赖的细胞存活^[46]。

4.1.5 仅研究ER α 泛素化水平的改变

CSN蛋白复合体的一个亚基CSN5/Jab1能与ER α 结合并促进ER α 的泛素化降解^[47]。ERK7结合于ER α 的DBD结构域并增强ER α 的泛素化降解^[48]。另外,BRCA1是一个广泛表达的泛素连接酶,可以与BARD1结合形成异源二聚体后发挥酶活性。ER α 是BRCA1/BARD1的底物之一,同时,BRCA1的突变可以大大增加乳腺癌的患病风险,该机制的发现可能对阐明乳腺癌的发生有重要意义^[49]。此外,E6AP能够结合ER α ,并促进ER α 泛素化^[50],但敲低E6AP并不能影响ER α 稳定性,说明E6AP的作用不是必须的^[40]。钙调节蛋白(Calmodulin)通过抑制E6AP与ER α 的结合拮抗E6AP的作用^[50]。

4.2 其他ER α 修饰

除上述的泛素化修饰外,已经发现的ER α 翻译后修饰还包括NEDD8修饰和甲基化修饰,NEDD8是一个类泛素分子。乳腺癌细胞中NEDD8信号通路受阻会导致ICI182,780介导的ER α 降解减弱,提示NEDD8通路可能与乳腺癌的内分泌治疗抵抗有关^[51]。Krithika等^[52]发现,MCF7细胞中敲低SET7基因的表达,ER α 水平大大降低。说明SET7是一个甲基转移酶,能够甲基化ER α 第322位的赖氨酸,这种甲基化对于稳定ER α 有重要作用。

5 结语

ER α 在乳腺癌发生发展过程中扮演重要角色,其表达水平的高低与肿瘤的诊断、治疗以及预后密切相关。调节ER α 表达水平的机制比较复杂,涉及不同调控水平的众多分子,是否有一些分子是乳腺癌进程中调节ER α 的关键分子?已经证实启动子甲基化和组蛋白乙酰化之间可以相互影响,那么其他的调节方式之间是否也存在这种相互影响?是否存在新的调节方式?这些问题的研究和解决将会使乳腺癌发生发展的机制更加清晰,对乳腺癌的临床诊断、治疗以及预后有重要意义。

参考文献(References):

- [1] Beato M. Gene regulation by steroid hormones. *Cell*, 1989, 56(3): 335-344. [\[DOI\]](#)
- [2] Menasce LP, White GR, Harrison CJ, Boyle JM. Localization of the estrogen receptor locus (ESR) to chromosome 6q25.1 by FISH and a simple post-FISH banding technique. *Genomics*, 1993, 17(1): 263-265. [\[DOI\]](#)
- [3] Ricketts D, Turnbull L, Ryall G, Bakhshi R, Rawson NS, Gazet JC, Nolan C, Coombes RC. Estrogen and progesterone receptors in the normal female breast. *Cancer Res*, 1991, 51(7): 1817-1822.
- [4] Lapidus RG, Nass SJ, Butash KA, Parl FF, Weitzman SA, Graff JG, Herman JG, Davidson NE. Mapping of ER gene CpG island methylation-specific polymerase chain reaction. *Cancer Res*, 1998, 58(12): 2515-2519.
- [5] Ottaviano YL, Issa JP, Parl FF, Smith HS, Baylin SB, Davidson NE. Methylation of the estrogen receptor gene CpG island marks loss of estrogen receptor expression in human breast cancer cells. *Cancer Res*, 1994, 54(10): 2552-2555.
- [6] Zhao L, Wang L, Jin F, Ma W, Ren J, Wen X, He M, Sun M, Tang H, Wei M. Silencing of estrogen receptor alpha

- (ER α) gene by promoter hypermethylation is a frequent event in Chinese women with sporadic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 117(2): 253–259. [\[DOI\]](#)
- [7] Ferguson AT, Lapidus RG, Davidson NE. Demethylation of the progesterone receptor CpG island is not required for progesterone receptor gene expression. *Oncogene*, 1998, 17(5): 577–583. [\[DOI\]](#)
- [8] Yang X, Ferguson AT, Nass SJ, Phillips DL, Butash KA, Wang SM, Herman JG, Davidson NE. Transcriptional activation of estrogen receptor α in human breast cancer cells by histone deacetylase inhibition. *Cancer Res*, 2000, 60(24): 6890–6894.
- [9] Yan L, Nass SJ, Smith D, Nelson WG, Herman JG, Davidson NE. Specific inhibition of DNMT1 by antisense oligonucleotides induces re-expression of estrogen receptor- α (ER) in ER-negative human breast cancer cell lines. *Cancer Biol Ther*, 2003, 2(5): 552–556.
- [10] Kawai H, Li H, Avraham S, Jiang S, Avraham HK. Overexpression of histone deacetylase HDAC1 modulates breast cancer progression by negative regulation of estrogen receptor α . *Int J Cancer*, 2003, 107(3): 353–358. [\[DOI\]](#)
- [11] Suzuki J, Chen YY, Scott GK, Devries S, Chin K, Benz CC, Waldman FM, Hwang ES. Protein acetylation and histone deacetylase expression associated with malignant breast cancer progression. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(9): 3163–3171. [\[DOI\]](#)
- [12] Rountree MR, Bachman KE, Baylin SB. DNMT1 binds HDAC2 and a new co-repressor, DMAP1, to form a complex at replication foci. *Nat Genet*, 2000, 25(3): 269–277. [\[DOI\]](#)
- [13] El-Osta A, Wolffe AP. DNA methylation and histone deacetylation in the control of gene expression: basic biochemistry to human development and disease. *Gene Expr*, 2000, 9(1–2): 63–75.
- [14] Fuks F, Hurd PJ, Wolf D, Nan X, Bird AP, Kouzarides T. The methyl-CpG-binding protein MeCP2 links DNA methylation to histone methylation. *J Biol Chem*, 2003, 278(6): 4035–4040. [\[DOI\]](#)
- [15] Sharma D, Blum J, Yang X, Beaulieu N, Macleod AR, Davidson NE. Release of methyl CpG binding proteins and histone deacetylase 1 from the Estrogen receptor α (ER) promoter upon reactivation in ER-negative human breast cancer cells. *Mol Endocrinol*, 2005, 19(7): 1740–1751. [\[DOI\]](#)
- [16] Keen JC, Yan L, Mack KM, Pettit C, Smith D, Sharma D, Davidson NE. A novel histone deacetylase inhibitor, scriptaid, enhances expression of functional estrogen receptor α (ER) in ER negative human breast cancer cells in combination with 5-aza 2'-deoxycytidine. *Breast Cancer Res Treat*, 2003, 81(3): 177–186. [\[DOI\]](#)
- [17] Fan J, Yin WJ, Lu JS, Wang L, Wu J, Wu FY, di Gh, Shen ZZ, Shao ZM. ER α negative breast cancer cells restore response to endocrine therapy by combination treatment with both HDAC inhibitor and DNMT inhibitor. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2008, 134(8): 883–890. [\[DOI\]](#)
- [18] Keaveney M, Klug J, Dawson MT, Nestor PV, Neilan JG, Forde RC, Gannon F. Evidence for a previously unidentified upstream exon in the human oestrogen receptor gene. *J Mol Endocrinol*, 1991, 6(1): 111–115. [\[DOI\]](#)
- [19] Piva R, Bianchi N, Aguiari GL, Gambari R, Del SL. Sequencing of an RNA transcript of the human estrogen receptor gene: evidence for a new transcriptional event. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 1993, 46(5): 531–538. [\[DOI\]](#)
- [20] Grandien KF, Berkenstam A, Nilsson S, Gustafsson JA. Localization of DNase I hypersensitive sites in the human oestrogen receptor gene correlates with the transcriptional activity of two differentially used promoters. *J Mol Endocrinol*, 1993, 10(3): 269–277. [\[DOI\]](#)
- [21] Hayashi S, Imai K, Suga K, Kurihara T, Higashi Y, Nakachi K. Two promoters in expression of estrogen receptor messenger RNA in human breast cancer. *Carcinogenesis*, 1997, 18(3): 459–464. [\[DOI\]](#)
- [22] Tang Z, Treilleux I, Brown M. A transcriptional enhancer required for the differential expression of the human estrogen receptor in breast cancers. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(3): 1274–1280.
- [23] Guo S, Sonenshein GE. Forkhead box transcription factor FOXO3a regulates estrogen receptor α expression and is repressed by the Her-2/neu/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(19): 8681–8690. [\[DOI\]](#)
- [24] Madureira PA, Varshochi R, Constantinidou D, Francis RE, Coombes RC, Yao KM, Lam EW. The Forkhead box M1 protein regulates the transcription of the estrogen receptor α in breast cancer cells. *J Biol Chem*, 2006, 281(35): 25167–25176. [\[DOI\]](#)
- [25] Deconinck EC, Mcpherson LA, Weigel RJ. Transcriptional regulation of estrogen receptor in breast carcinomas. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(4): 2191–2196.
- [26] Mcpherson LA, Baichwal VR, Weigel RJ. Identification of ERF-1 as a member of the AP2 transcription factor family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(9): 4342–4347. [\[DOI\]](#)
- [27] Woodfield GW, Horan AD, Chen Y, Weigel RJ. TFAP2C controls hormone response in breast cancer cells through multiple pathways of estrogen signaling. *Cancer Res*, 2007, 67(18): 8439–8443. [\[DOI\]](#)
- [28] Woodfield GW, Hitchler MJ, Chen Y, Domann FE, Weigel RJ. Interaction of TFAP2C with the estrogen receptor- α promoter is controlled by chromatin structure. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(11): 3672–3679. [\[DOI\]](#)

- [29] Tanimoto K, Eguchi H, Yoshida T, Hajiro-Nakanishi K, Hayashi S. Regulation of estrogen receptor alpha gene mediated by promoter B responsible for its enhanced expression in human breast cancer. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(3): 903–909. [\[DOI\]](#)
- [30] Angeloni SV, Martin MB, Garcia-Morales P, Castro-Galache MD, Ferragut JA, Saceda M. Regulation of estrogen receptor-alpha expression by the tumor suppressor gene p53 in MCF-7 cells. *J Endocrinol*, 2004, 180(3): 497–504. [\[DOI\]](#)
- [31] Gomez BP, Riggins RB, Shajahan AN, Klimach U, Wang A, Crawford AC, Zhu Y, Zwart A, Wang M, Clarke R. Human X-box binding protein-1 confers both estrogen independence and antiestrogen resistance in breast cancer cell lines. *FASEB J*, 2007, 21(14): 4013–4027. [\[DOI\]](#)
- [32] Adams BD, Furneaux H, White BA. The micro-ribonucleic acid (miRNA) miR-206 targets the human estrogen receptor-alpha (ERalpha) and represses ERalpha messenger RNA and protein expression in breast cancer cell lines. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(5): 1132–1147. [\[DOI\]](#)
- [33] Kondo N, Toyama T, Sugiura H, Fujii Y, Yamashita H. miR-206 Expression is down-regulated in estrogen receptor alpha-positive human breast cancer. *Cancer Res*, 2008, 68(13): 5004–5008. [\[DOI\]](#)
- [34] Zhao JJ, Lin J, Yang H, Kong W, He L, Ma X, Coppola D, Cheng JQ. MicroRNA-221/222 negatively regulates estrogen receptor alpha and is associated with tamoxifen resistance in breast cancer. *J Biol Chem*, 2008, 283(45): 31079–31086. [\[DOI\]](#)
- [35] Wormke M, Stoner M, Saville B, Walker K, Abdelrahim M, Burghardt R, Safe S. The aryl hydrocarbon receptor mediates degradation of estrogen receptor alpha through activation of proteasomes. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(6): 1843–1855. [\[DOI\]](#)
- [36] Nawaz Z, Lonard DM, Dennis AP, Smith CL, O'Malley BW. Proteasome-dependent degradation of the human estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(5): 1858–1862. [\[DOI\]](#)
- [37] Reid G, Hubner MR, Metivier R, Brand H, Denger S, Manu D, Beaudouin J, Ellenberg J, Gannon F. Cyclic, proteasome-mediated turnover of unliganded and liganded ERalpha on responsive promoters is an integral feature of estrogen signaling. *Mol Cell*, 2003, 11(3): 695–707. [\[DOI\]](#)
- [38] Luo M, Koh M, Feng J, Wu Q, Melamed P. Cross talk in hormonally regulated gene transcription through induction of estrogen receptor ubiquitylation. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(16): 7386–7398. [\[DOI\]](#)
- [39] Chu I, Arnaut A, Loiseau S, Sun J, Seth A, McMahon C, Chun K, Hennessy B, Mills GB, Nawaz Z, Slingerland JM. Src promotes estrogen-dependent estrogen receptor alpha proteolysis in human breast cancer. *J Clin Invest*, 2007, 117(8): 2205–2215. [\[DOI\]](#)
- [40] Shao W, Keeton EK, McDonnell DP, Brown M. Coactivator AIB1 links estrogen receptor transcriptional activity and stability. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(32): 11599–11604. [\[DOI\]](#)
- [41] Nakajima A, Maruyama S, Bohgaki M, Miyajima N, Tsukiyama T, Sakuragi N, Hatakeyama S. Ligand-dependent transcription of estrogen receptor alpha is mediated by the ubiquitin ligase EFP. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 357(1): 245–251. [\[DOI\]](#)
- [42] Tateishi Y, Kawabe Y, Chiba T, Murata S, Ichikawa K, Murayama A, Tanaka K, Baba T, Kato S, Yanagisawa J. Ligand-dependent switching of ubiquitin-proteasome pathways for estrogen receptor. *EMBO J*, 2004, 23(24): 4813–4823. [\[DOI\]](#)
- [43] Duong V, Boule N, Daujat S, Chauvet J, Bonnet S, Neel H, Cavailles V. Differential regulation of estrogen receptor alpha turnover and transactivation by Mdm2 and stress-inducing agents. *Cancer Res*, 2007, 67(11): 5513–5521. [\[DOI\]](#)
- [44] Grisouard J, Medunjanin S, Hermani A, Shukla A, Mayer D. Glycogen synthase kinase-3 protects estrogen receptor alpha from proteasomal degradation and is required for full transcriptional activity of the receptor. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(10): 2427–2439. [\[DOI\]](#)
- [45] Park S, Song J, Joe CO, Shin I. Akt stabilizes estrogen receptor alpha with the concomitant reduction in its transcriptional activity. *Cell Signal*, 2008, 20(7): 1368–1374. [\[DOI\]](#)
- [46] Wei X, Xu H, Kufe D. MUC1 oncoprotein stabilizes and activates estrogen receptor alpha. *Mol Cell*, 2006, 21(2): 295–305. [\[DOI\]](#)
- [47] Callige M, Kieffer I, Richard-Foy H. CSN5/Jab1 is involved in ligand-dependent degradation of estrogen receptor {alpha} by the proteasome. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(11): 4349–4358. [\[DOI\]](#)
- [48] Henrich LM, Smith JA, Kitt D, Errington TM, Nguyen B, Traish AM, Lannigan DA. Extracellular signal-regulated kinase 7, a regulator of hormone-dependent estrogen receptor destruction. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(17): 5979–5988. [\[DOI\]](#)
- [49] Eakin CM, Maccoss MJ, Finney GL, Klevit RE. Estrogen receptor alpha is a putative substrate for the BRCA1 ubiquitin ligase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(14): 5794–5799. [\[DOI\]](#)
- [50] Li L, Li Z, Howley PM, Sacks DB. E6AP and calmodulin reciprocally regulate estrogen receptor stability. *J Biol Chem*, 2006, 281(4): 1978–1985. [\[DOI\]](#)
- [51] Fan M, Bigsby RM, Nephew KP. The NEDD8 pathway is required for proteasome-mediated degradation of human estrogen receptor (ER)-alpha and essential for the antiproliferative activity of ICI 162,780 in ERalpha-positive breast cancer cells. *Mol Endocrinol*, 2003, 17(3): 356–365. [\[DOI\]](#)
- [52] Subramanian K, Jia D, Kapoor-Vazirani P, Powell DR, Collins RE, Sharma D, Peng J, Cheng X, Vertino PM. Regulation of estrogen receptor alpha by the SET7 lysine methyltransferase. *Mol Cell*, 2008, 30(3): 336–347. [\[DOI\]](#)