

连接蛋白43与乳腺癌发生发展关系的研究进展

王丹青, 明 佳*

重庆医科大学附属第二医院, 乳腺甲状腺外科, 重庆

收稿日期: 2022年3月28日; 录用日期: 2022年4月19日; 发布日期: 2022年4月28日

摘 要

乳腺癌在女性恶性肿瘤发生中占据首位, 连接蛋白43在乳腺癌中存在异常表达, 在乳腺癌的发生、发展过程中起着作用。本文主要讨论连接蛋白43在乳腺癌中的研究进展, 探讨其在正常乳腺组织、乳腺癌原发灶及远处转移灶中的表达情况, 为乳腺癌的治疗提供新的思路。

关键词

乳腺癌, Cx43, 转移, 预后

Research Progress in the Relationship between Connexin 43 and the Occurrence and Development of Breast Cancer

Danqing Wang, Jia Ming*

Department of Breast and Thyroid Surgery, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Mar. 28th, 2022; accepted: Apr. 19th, 2022; published: Apr. 28th, 2022

Abstract

Breast cancer occupies the first place in the occurrence of female malignant tumors. Connexin 43 (Cx43) has abnormal expression in breast cancer, and plays a role in the occurrence and development of breast cancer. This article mainly discusses the research progress of Cx43 in breast cancer, and discusses its expression in normal breast tissue, primary breast cancer and distant metastasis, so as to provide new ideas for the treatment of breast cancer.

*通讯作者 Email: mingjia@cqmu.edu.cn

Keywords

Breast Cancer, Cx43, Metastasis, Prognosis

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

乳腺癌已成为女性发病率最高的恶性肿瘤, 2020 年全世界有 220 万新增病例[1]。其发病率逐年增长, 并且具有年轻化的趋势[2]。全球约有 11% 的乳腺癌发生在中国, 对女性的健康有着严重的影响[3]。近几年有学者研究称细胞缝隙连接蛋白 43 (connexin 43, Cx43) 在人类多种肿瘤的产生、生长及预后中发挥不可缺少的作用[4]。国内外都有相关研究报道 Cx43 表达和乳腺癌的临床特征存在着某种关联, 但得到的结论却不一致[5] [6] [7] [8]。本文将对 Cx43 的表达情况与乳腺癌关系的研究进展作一综述。

2. Cx43 概述

连接蛋白是一个跨膜蛋白家族, 在细胞间形成缝隙连接的细胞间通道, 直接连接相邻细胞的细胞质, 在细胞通讯中起着传播作用[9] [10] [11]。每个缝隙连接由两个相邻细胞的细胞膜上六边形排列的半通道组成, 细胞膜上的半通道由两个六聚体连接蛋白寡聚体组成[12]。其中连接蛋白 43 (Cx43) 是表达最高和研究最广泛的连接蛋白之一, 已被发现在多种肿瘤中存在异常表达, 包括肝脏、前列腺和乳腺[13] [14] [15] [16]。Cx43 在乳腺癌的发生、发展、肿瘤细胞转移过程中起着一定作用, 对细胞间的粘附、肿瘤细胞与细胞微环境的相互作用以及转移潜能都存在影响[17]。

3. Cx43 在正常乳腺组织的表达情况

Cx43 是乳腺组织中的主要连接蛋白之一, 于 1992 年首次在人类乳腺组织中被检测到[18], 并且主要表达于乳腺导管的肌上皮细胞[19] [20] [21]。Wilgenbus 等人[18]首次发现 Cx43 在人正常乳腺和乳腺浸润性导管癌的结合组织中表达。Monaghan 等人[22]的一项后续研究, 利用从乳房缩小术中获得的人类乳房, 证实了 Cx43 在人类乳房中的表达。在 Monaghan 等人[22]的研究中, 还通过逆转录酶定量聚合酶链反应 (reverse transcriptase PCR, RT-PCR) 对正常乳腺样本进行 Cx43 的评估, 证实了 Cx43 mRNA 的存在。随后, Pozzi 等人[23]的一项研究通过免疫组化和 RT-PCR 对人类乳腺样本中的 Cx43 进行了评估, 检测到 Cx43 的表达局限于肌上皮细胞。Kanczuga Koda 等人[20]和 Jamieson 等人[21]都证实了 Cx43 在正常、非恶性乳腺的肌上皮细胞中的表达。此外, 学者们一致认为 Cx43 主要定位于肌上皮细胞外侧的质膜, 推测其在肌上皮细胞之间形成缝隙连接[21] [22] [24] [25]。Cx43 除了在乳腺肌上皮细胞上表达外, 还在乳腺成纤维细胞有所表达, Tomasetto 等人[26]在体外培养的人乳腺成纤维细胞中发现了 Cx43 蛋白, 染料转移实验显示成纤维细胞和上皮细胞之间存在异质细胞缝隙连接通讯 (gap junction intercellular communication, GJIC)。并且正常乳腺组织的基质通常不表达 Cx43 [21]。

一些研究表明 Cx43 与乳腺发育有关[27] [28] [29] [30], 在乳腺及其发育和分化过程中均存在表达[22] [25] [31]。研究表明, 在细胞可塑性最强的乳腺发育阶段, 包括青春期、妊娠早期和退化早期, Cx43 的表达较高, 在调节乳腺腺体增殖中起作用[32]。Lambe 及 Talhouk 等人[33] [34]发现 Cx43 的表达在乳腺

发育过程中受到了调控。Northern 分析和 PCR 显示, Cx43 在妊娠中期下调, 在哺乳期几乎消失, 但在退化后重新表达。有趣的是, Talhouk 等人[34]还发现在妊娠的最后几天和哺乳期开始时, Cx43 蛋白明显地出现高度磷酸化转变, 这一现象也在大鼠乳腺中观察到[35]。总的来说, Cx43 在整个乳腺发育过程中都有表达, 在肌上皮细胞的生长和分化中发挥作用; 它甚至可能是哺乳期肌上皮功能发挥作用的必需因素。

4. Cx43 在乳腺癌中的表达情况

4.1. Cx43 在原发灶中的表达情况

4.1.1. Cx43 在原发灶中的表达部位及作用

Cx43 在正常人乳腺肌上皮细胞中的表达相对丰富, 因此研究 Cx43 在乳腺癌中的表达相对于正常组织是否增加或减少与肿瘤预后的关系尤为重要。Jamieson 等人[21]评估了 Cx43 在乳腺癌组织与正常乳腺组织中的表达情况。研究观察到浸润性乳腺癌间质中含有 Cx43 阳性细胞, 这与正常乳腺组织的间质不同, 正常乳腺组织的基质通常不表达 Cx43。这些发现与 Wilgenbus 等人的早期研究一致, Wilgenbus 等人[18]也观察到浸润性导管癌样本中 Cx43 的间质染色。总之, 这些研究表明, 浸润性乳腺癌间质中 Cx43 蛋白表达增加。

在 Jamieson 等人[21]之前的研究发现, 在 12 例恶性程度较低的肿瘤中, Cx43 在其中 4 例肿瘤中的定位显示主要是细胞质染色, 表明 Cx43 定位于远离缝隙连接的部位。在恶性程度较高肿瘤中也进行了类似的观察, 并且其中 15 个样本中有 10 个显示 Cx43 主要为细胞质染色。Laird 等人[36]的研究确定 Cx43 表达丢失, 报告乳腺肿瘤中没有 Cx43 表达, 因此没有 Cx43 阳性缝隙连接。在 Kanczuga-Koda 等人的早期研究[20]中, 免疫组化分析显示 Cx43 主要在细胞质中表达, 但在 11 例导管内癌中仅 3 例表达。其余 8 个样本的 Cx43 呈阴性, 大多数浸润性癌样本(26/29)中主要表现为 Cx43 的弥漫性细胞质染色。Kanczuga-Koda 等人后来的一项研究[24]在更大的样本子集中也证实了 Cx43 在细胞质中的表达。该研究在 71 例浸润性导管乳腺癌样本中观察到 55 例细胞质 Cx43 染色。在剩下的 16 个样本中, 6 个样本显示癌细胞质膜中的 Cx43 点状染色, 可能代表缝隙连接部位, 余 10 个样本 Cx43 呈阴性。其他研究中也报道了这种现象[20] [21]。

Cx43 表达的细胞膜定位与细胞间缝隙连接通讯有关, 而细胞质定位与细胞内稳态(如控制细胞增殖和凋亡)相关。Maria Chasampalioti 等人[37]最近一项研究分析了细胞膜和细胞质 Cx43 的表达。他们发现大多数肿瘤的细胞膜 Cx43 表达较低(87%), 提示大多数肿瘤的细胞膜表达缺失, 并发现尽管 Cx43 在细胞质中被检测到, 但在大多数肿瘤中(73%)是低水平的。在他们研究中, Cx43 在细胞质和细胞膜中均有高表达的患者生存结果好于那些仅在细胞浆中呈阳性的患者, Cx43 不表达是预后最差的。这可能表明, 随着肿瘤的发展, Cx43 首先失调表达至细胞质, 然后失去细胞膜上的表达, 最后完全不表达。

Teleki 等人最近的一项研究类似地暗示了这样一种观点, 即在增殖水平较高的肿瘤中, Cx43 变得更具细胞质性, 这表明其具有更具侵袭性的表型[25]。这些发现可能表明, 随着肿瘤向侵袭性表型发展, Cx43 表达上调, 或者肿瘤内表达细胞质 Cx43 的主导细胞类型构成了侵袭性肿瘤的大部分。Cx43 的细胞质定位表明, 在浸润性乳腺癌中缝隙连接缺失。总之, 这些研究证实了乳腺癌中 Cx43 主要是细胞质的观察结果, 这可能与 Cx43 GJIC 的缺失与侵袭性有关。

有趣的是, Jamieson 等人[21]在研究中检测显示大多数癌细胞中 Cx43 水平上调。作者认为, Cx43 蛋白表达水平的显著增加与 GJIC 抑制肿瘤形成的假设背道而驰。然而, 如果 Cx43 蛋白在缝隙连接部位上调, 但没有具体定位或功能, 那么这可能表明 Cx43 缝隙连接并不是依赖功能而存在的, 或者癌细胞上调 Cx43 蛋白作为一种代偿机制。值得注意的是, 该研究中 12 例低恶性程度肿瘤中有 4 例和 15 例高恶性程度肿瘤中有 10 例显示癌细胞为 Cx43 阳性, 观察到的染色主要为弥漫性和胞质性。作者推测, 正常人

乳腺导管上皮细胞表达 Cx43 以外的连接蛋白, 癌细胞对 Cx43 的上调可能改变增生或恶性细胞与正常非癌细胞之间的 GJIC [21]。与之相反, Laird 等人[36]的一项研究表明, 与正常乳腺组织相比, 乳腺肿瘤中的 Cx43 蛋白表达减少或丢失。作者没有观察到基质中 Cx43 染色增加。另外, 一项 Meta 分析[38]也支持了 Laird 等人的观点, 该研究汇总了 9 个原始研究, 对 Cx43 在乳腺癌组织与正常乳腺组织阳性表达率的进行比较, 发现乳腺癌 Cx43 阳性表达率为 40.51% (256/632), 正常乳腺组织阳性表达率为 92.50% (222/240), 乳腺癌组织中 Cx43 阳性表达率明显低于正常组织。

4.1.2. Cx43 表达情况与病理类型的关系

Cx43 在不同病理类型上的表达也不尽相同。Kanczuga Koda 等人[20]后来的一项研究评估了一组样本, 这些样本分别来自正常乳腺(n=25)、发育不良乳腺组织样本(n=40)和乳腺癌样本(n=29 包括导管内癌和浸润性癌)。与早期的观察结果一致, 大多数导管内癌与 Cx43 抗体几乎没有免疫反应, 表明 Cx43 表达在恶变期间缺失或降低[21] [36]。然而在多数浸润性乳腺癌中, 观察到弥漫性胞浆染色, 表明存在明显数量的 Cx43 蛋白。他们的发现与 Jamieson 等人的研究一致, Jamieson 等人也观察到浸润性癌中 Cx43 染色增加[21]。然而, 应该注意的是, 在 Jamieson 等人的研究中, Cx43 染色的增加与肿瘤间质中 Cx43 的增加有关[21]。这一区别是否显著, 仍有待确定。在 Laird 等人[36]的研究中, 对 32 例未接受术前新辅助化疗或放疗的乳腺癌患者的手术标本进行了评估, 并将其与相应患者样本的邻近正常组织进行了比较。部分结果与 Jamieson 等人[21]的观察结果类似, 非恶性乳腺组织样本显示出中度至高度的 Cx43 染色。但 Laird 等人[36]评估了包括导管原位癌、浸润性小叶癌和浸润性导管癌的 32 个恶性样本后发现, 不同组织学类型之间均未观察到 Cx43 表达的差异, 几乎所有样本的 Cx43 染色均为阴性。

4.2. Cx43 在转移灶中的表达情况

4.2.1. 淋巴结转移

乳腺癌转移与许多种因素息息相关, Cx43 表达改变是否提示乳腺癌出现转移, 现目前研究所得出的结论尚且存在着争议。部分研究者发现 Cx43 在已建立的乳腺癌转移病灶中被发现上调, 提示该蛋白可能在晚期转移步骤中起作用, 包括外渗和组织定植[39] [40] [41] [42]。在 Kanczuga-Koda 等人[39]的研究中, 首次证明了 Cx43 在乳腺癌的淋巴转移中的表达高于癌旁组织, Cx43 在转移性乳腺癌细胞中表达增强。与原发灶相比, Cx43 在淋巴结转移灶中表达增加。这些发现提示缝隙连接蛋白可能有助于乳腺癌向淋巴结的有效转移。有意思的是, 他们还在发现在原发灶 Cx43 阴性的患者出现了 Cx43 阳性的淋巴结转移灶, 这一结果与 Kamibayashi 等人[43]的结果一致, Kamibayashi 等人用免疫组织化学方法分析了 Cx43 在小鼠皮肤癌变的不同阶段。他们发现, 尽管所研究的连接蛋白在小鼠皮肤癌变和早期侵袭的早期阶段表达减少, 但 Cx43 在转移到淋巴结的细胞的质膜上出现表达。作者认为, 连接蛋白可能通过在肿瘤细胞和淋巴结血管内皮细胞之间形成缝隙连接而在癌细胞外渗到淋巴组织中发挥重要作用。与之相反, 张光谋、张立英及高一菁等[44] [45] [46] [47]则认为 Cx43 表达的下降与乳腺癌细胞的转移有关。更有 FU、涂永久等[48] [49]学者认为 Cx43 表达与乳腺癌有无淋巴结转移无差异。一项 Meta 分析[38]结果显示, Cx43 在乳腺癌组织中有没有淋巴结转移情况下阳性表达率没有关系。

4.2.2. 远处脏器转移

Cx43 也被发现在乳腺癌的远处转移灶中出现表达以及发挥了一定的作用。最新一项基础研究[50]证明了 Cx43 由脑微血管内皮细胞(brain microvascular endothelial cell, BMEC)和乳腺癌细胞(breast cancer cell, BCC)表达, 并在相互作用时经历亚细胞再分配, 这表明该蛋白可能在两个细胞群之间的相互作用中发挥作用。在 BCC 接触区域观察到 Cx43 表达的增加, 特别是在较晚的时间点在已建立的 4T1 簇中, 这

表明 BCC 间通讯对于簇形成和维持的重要性。该团队在乳腺癌脑转移的体内模型中也观察到了这种细胞间通讯[51], 其中 Cx43 显示位于 BCC-BCC 和 BCC-BMEC 接触点。这些观察结果表明 Cx43 在整个血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的恶性细胞跨内皮迁移中起作用。Bellahcene 等人[52]的研究中, 发现表达模式类似于成骨细胞的分化的骨转移变异体 B02 细胞中, Cx43mRNA 在 B02 细胞中的表达几乎高出五倍, 当 B02 细胞被注射到小鼠体内并形成转移时, 在骨骼中发现的细胞表达高水平的 Cx43, 但肝转移灶中未检测到的 Cx43 水平。其他使用小鼠模型的实验[53]证据表明, 当与 Her2 过表达的小鼠杂交时, Cx43 失活突变的小鼠表现出可触及的乳腺肿瘤的延迟发病, 同时表现出增加的肺转移。

5. Cx43 与乳腺癌基因型的关系

虽然许多研究表明 Cx43 是激素反应性的[54] [55], 但目前关于 Cx43 与乳腺癌各基因型的关系尚不明确。最近 Maria Chasampalioti 等人[37]的一项研究, Cx43 与 ER、PR 状态呈正相关, 与 Ki-67 呈负相关。这些发现与 Conkil 等人[56]的研究结果一致, 这可能表明 Cx43 的缺失导致细胞增殖增加, 他们还发现低 Cx43 与 ER、PR、HER2 阴性和三阴性肿瘤相关。Teleki 等人[57]之前的一项研究评估了新辅助化疗前后乳腺癌患者样本中 Cx43 的表达情况。结果表明, 原发性乳腺癌化疗前后, Cx43 表达与激素受体水平呈正相关, 和 Her2 水平之间呈负相关。这些结果可能意味着 Cx43 在原发性乳腺癌中的潜在肿瘤抑制功能。后续 Teleki 等人[25]又进行了一项研究显示, Cx43 蛋白水平与 ER 阳性呈正相关, 与肿瘤分级呈负相关, 在 ER 阳性的原发乳腺癌中, Cx43mRNA 的表达与肿瘤抑制有关, 而在 ER 阴性的病例中, Cx43 的表达与肿瘤保护有关。Cx43 对肿瘤生长的控制可能有助于 ER 阳性肿瘤的更好分化以及患者生存。他们认为在 ER 阴性的乳腺癌中, 其他通路主导 Cx43 的表达, 可能涉及 Wnt-1 和/或 Ras-Raf-MAPK 激活[58], 这也可能是促进有丝分裂信号的一部分, 导致分化较低和预后较差[59]。然而 Laird 等人[36]评估了 ER、PR 和 Her2 与 Cx43 表达的关系, 未观察明显的相关性。

6. Cx43 与乳腺癌的预后

Cx43 在乳腺癌中的作用存在争议。学者们对 Cx43 在乳腺癌发生、发展中的作用观点并不一致, 一些人将其描述为肿瘤抑制因子, 另一些人则认为其是肿瘤发生中的关键分子。

Teleki 等人[57]之前的一项研究评估了新辅助化疗前后乳腺癌患者样本中 Cx43 的表达情况。结果表明, Cx43 的表达不会因化疗而改变。他们还发现, 化疗前和化疗后样本中均存在 Cx43 阳性的乳腺癌细胞。这一观察结果与 KanczugaKoda 等人[20]的研究一致, 该研究报告了浸润性乳腺癌样本中 Cx43 的显著染色水平。几乎所有评估 Cx43 表达的研究都着眼于免疫组化的蛋白质表达检测上。因此, Teleki 等人后来又进行了一项研究[25], 利用 mRNA 平台评估连接蛋白基因的表达。作者对来自 Affymetrix 和 Illumina 平台的数据分别进行了 mRNA 分析, 但两种分析得出了相似的结果。Affymetrix 分析显示, 高 Cx43mRNA 表达与 ER 阴性患者的无复发生存率(relapse-free survival, RFS)和总生存率(overall survival, OS)降低有关。Stoletov 等人[60]的一项研究通过对 Oncomine 数据库的分析证实了这一观察结果。Stoletov 等人的分析表明, 较高的 Cx43 表达与患者死亡和复发增加相关。

然而, 在 Teleki 等人[25]的研究中, 当评估无远处转移生存率(distant metastasis-free Survival, DMFS)时, 情况正好相反: 在淋巴结阴性患者和 ER 阳性患者中, Cx43 升高与较长的 DMFS 相关。与这些发现类似, 基于 Illumina 的分析显示, 在接受内分泌治疗的全体患者队列、ER 阳性组、luminal a 组和 ER 阳性队列中, Cx43 升高与 OS 之间存在显著的正相关。Maria Chasampalioti 等人[37]最近一项研究也认为 Cx43 是肿瘤抑制因子, 他们分析了超过 1000 个原始组织样本以及患者的临床数据, 认为低表达的 Cx43 与患者预后不良有关, Cx43 可以作为乳腺癌生存率和无远处转移生存率的独立预测因子。在他们研究中,

高表达 Cx43 的肿瘤患者的生存率明显高于低表达 Cx43 的患者, 肿瘤内 Cx43 的高表达有着 18 个月的生存优势。Cx43 表达缺失与预后不良的标志物相关, 即大肿瘤大小、高分级、高增殖状态、高多形性、高有丝分裂、不良诺丁汉预后指数和三阴性肿瘤。但也有部分学者, 如 Conklin C 等人[56]认为 Cx43 的表达情况与乳腺癌的预后关系不大。

7. 结语

综上所述, Cx43 对乳腺癌的发生发展有一定作用。它的功能是多重的, 一方面, Cx43 长期以来一直被认为是一种肿瘤抑制因子, 在癌细胞系的 mRNA 和蛋白质水平上表达不足, 或者在肿瘤中发生异常定位和磷酸化。Cx43 还与乳腺癌进展和转移相关过程的控制有关, 如增殖、侵袭、迁移和凋亡。另一方面, 许多证据表明 Cx43 在乳腺癌的后期参与了调节作用, 介导肿瘤和内皮细胞之间的相互作用, 以促进继发部位的粘附和渗透。Cx43 在淋巴结转移中的表达水平也高于相应的原发肿瘤。Cx43 作为肿瘤抑制或启动子的表达背景尚未阐明, 因此排除了其在乳腺癌治疗中的靶向性。Cx43 在乳腺癌缝隙连接处的定位和活性的功能相关性仍有待明确。

参考文献

- [1] 曹毛毛, 陈万青. GLOBOCAN 2020 全球癌症统计数据解读[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2021, 13(3): 63-69.
- [2] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. and Jemal, A. (2018) Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **68**, 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [3] Li, T., Mello-Thoms, C. and Brennan, P.C. (2016) Descriptive Epidemiology of Breast Cancer in China: Incidence, Mortality, Survival and Prevalence. *Breast Cancer Research & Treatment*, **159**, 395-406. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3947-0>
- [4] 王君, 卞修武, 余时沧. 间隙连接蛋白 43 羧基端在恶性肿瘤中的作用及机制[J]. 中国细胞生物学学报, 2015(3): 391-397.
- [5] 罗海清, 官成浓, 余忠华, 王镇南, 梁亚海. Cx43 和 Fas 在胃癌组织中的表达[J]. 山东医药, 2011, 51(44): 83-85.
- [6] Guo, L.L., Wang, J., Wu, C., et al. (2013) Expression of Cx43 in Human Lung Adenocarcinoma and Its Significance. *Cancer Research and Clinic*, No. 5, 303-305.
- [7] Poyet, C., Buser, L., Roudnicky, F., et al. (2015) Connexin 43 Expression Predicts Poor Progression-Free Survival in Patients with Non-Muscle Invasive Urothelial Bladder Cancer. *Journal of Clinical Pathology*, **68**, 819-824. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2015-202898>
- [8] 冯洁, 周风华, 李文通, 张立英, 吕世军. 连接蛋白 43 与 Snail 在乳腺癌组织中的表达及意义[J]. 潍坊医学院学报, 2012, 34(3): 161-163.
- [9] Grek, C.L., Rhett, J.M. and Ghatnekar, G.S. (2014) Cardiac to Cancer: Connecting Connexins to Clinical Opportunity. *FEBS Letters*, **588**, 1349-1364. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.02.047>
- [10] Kumar, N.M. and Gilula, N.B. (1996) The Gap Junction Communication Channel. *Cell*, **84**, 381-388. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81282-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81282-9)
- [11] Makowski, L., Caspar, D.L., Phillips, W.C. and Goodenough, D.A. (1977) Gap Junction Structures. II. Analysis of the X-Ray Diffraction Data. *Journal of Cell Biology*, **74**, 629-645. <https://doi.org/10.1083/jcb.74.2.629>
- [12] Rhett, J.M., Fann, S.A. and Yost, M.J. (2014) Purinergic Signaling in Early Inflammatory Events of the Foreign Body Response: Modulating Extracellular ATP as an Enabling Technology for Engineered Implants and Tissues. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, **20**, 392-402. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2013.0554>
- [13] Ding, Y. and Nguyen, T.A. (2013) PQ1, A Quinoline Derivative, Induces Apoptosis in T47D Breast Cancer Cells through Activation of Caspase-8 and Caspase-9. *Apoptosis*, **18**, 1071-1082. <https://doi.org/10.1007/s10495-013-0855-1>
- [14] Ding, Y., Prasain, K., Nguyen, T.D., Hua, D.H. and Nguyen, T.A. (2012) The Effect of the PQ1 Anti-Breast Cancer Agent on Normal Tissues. *Anti-Cancer Drugs*, **23**, 897-905. <https://doi.org/10.1097/CAD.0b013e328354ac71>
- [15] Shishido, S.N., Delahaye, A., Beck, A. and Nguyen, T.A. (2014) The Anticancer Effect of PQ1 in the MMTV-PyVT Mouse Model. *International Journal of Cancer*, **134**, 1474-1483. <https://doi.org/10.1002/ijc.28461>

- [16] Grek, C.L., Rhett, J.M., Bruce, J.S., Abt, M.A., Ghatnekar, G.S. and Yeh, E.S. (2015) Targeting Connexin 43 with Alpha-Connexin Carboxyl-Terminal (ACT1) Peptide Enhances the Activity of the Targeted Inhibitors, Tamoxifen and Lapatinib, in Breast Cancer: Clinical Implication for ACT1. *BMC Cancer*, **15**, Article No. 296. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1229-6>
- [17] Grek, C.L., Matthew Rhett, J., Bruce, J.S., Ghatnekar, G.S. and Yeh, E.S. (2016) Connexin43, Breast Cancer Tumor Suppressor: Missed Connections? *Cancer Letters*, **374**, 117-126. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.02.008>
- [18] Wilgenbus, K.K., Kirkpatrick, C.J., Knuechel, R., Willecke, K. and Traub, O. (1992) Expression of Cx26, Cx32 and Cx43 Gap Junction Proteins in Normal and Neoplastic Human Tissues. *International Journal of Cancer*, **51**, 522-529. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910510404>
- [19] Shipitsin, M., Campbell, L.L., Argani, P., Weremowicz, S., Bloushtain-Qimron, N., Yao, J., Nikolskaya, T., Serebryiskaya, T., Beroukhim, R., Hu, M., *et al.* (2007) Molecular Definition of Breast Tumor Heterogeneity. *Cancer Cell*, **11**, 259-273. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.01.013>
- [20] Kanczuga-Koda, L., Sulkowska, M., Koda, M., Resz c, J., Famulski, W., Baltaziak, M. and Sulkowski, S. (2003) Expression of Connexin 43 in Breast Cancer in Comparison with Mammary Dysplasia and the Normal Mammary Gland. *Folia Morphologica*, **62**, 439-442.
- [21] Jamieson, S., Going, J.J., D'Arcy, R. and George, W.D. (1998) Expression of Gap Junction Proteins Connexin 26 and Connexin 43 in Normal Human Breast and in Breast Tumours. *The Journal of Pathology*, **184**, 37-43. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199801\)184:1<37::AID-PATH966>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199801)184:1<37::AID-PATH966>3.0.CO;2-D)
- [22] Monaghan, P., Clarke, C., Perusinghe, N.P., Moss, D.W., Chen, X.Y. and Evans, W.H. (1996) Gap Junction Distribution and Connexin Expression in Human Breast. *Experimental Cell Research*, **223**, 29-38. <https://doi.org/10.1006/excr.1996.0055>
- [23] Pozzi, A., Risek, B., Kiang, D.T., Gilula, N.B. and Kumar, N.M. (1995) Analysis of Multiple Gap Junction Gene Products in the Rodent and Human Mammary Gland. *Experimental Cell Research*, **220**, 212-219. <https://doi.org/10.1006/excr.1995.1308>
- [24] Kanczuga-Koda, L., Sulkowski, S., Tomaszewski, J., Koda, M., Sulkowska, M., Przystupa, W., Golaszewska, J. and Baltaziak, M. (2005) Connexins 26 and 43 Correlate with Bak, But Not with Bcl-2 Protein in Breast Cancer. *Oncology Reports*, **14**, 325-329. <https://doi.org/10.3892/or.14.2.325>
- [25] Teleki, I., Szasz, A.m., maros, m.E., Gyorffy, B., Kulka, J., meggyeshazi, N., Kiszner, G., Balla, P., Samu, A. and Krenacs, T. (2014) Correlations of Differentially Expressed Gap Junction Connexins Cx26, Cx30, Cx32, Cx43 and Cx46 with Breast Cancer Progression and Prognosis. *PLoS ONE*, **9**, e112541. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112541>
- [26] Tomasetto, C., Neveu, M.J., Daley, J., Horan, P.K. and Sager, R. (1993) Specificity of Gap Junction Communication among Human Mammary Cells and Connexin Transfectants in Culture. *The Journal of Cell Biology*, **122**, 157-167. <https://doi.org/10.1083/jcb.122.1.157>
- [27] Monaghan, P. and Moss, D. (1996) Connexin Expression and Gap Junctions in the Mammary Gland. *Cell Biology International*, **20**, 121-125. <https://doi.org/10.1006/cbir.1996.0016>
- [28] Plante, I. and Laird, D.W. (2008) Decreased Levels of connexin43 Result in Impaired Development of the Mammary Gland in a Mouse Model of Oculodentodigital Dysplasia. *Developmental Biology*, **318**, 312-322. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.03.033>
- [29] Plante, I., Wallis, A., Shao, Q. and Laird, D.W. (2010) Milk Secretion and Ejection Are Impaired in the Mammary Gland of Mice Harboring a Cx43 Mutant While Expression and Localization of Tight and Adherens Junction Proteins Remain Unchanged. *Biology of Reproduction*, **82**, 837-847. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.081406>
- [30] Stewart, M.K., Gong, X.Q., Barr, K.J., Bai, D., Fishman, G.I. and Laird, D.W. (2013) The Severity of Mammary Gland Developmental Defects Is Linked to the Overall Functional Status of Cx43 as Revealed by Genetically Modified Mice. *Biochemical Journal*, **449**, 401-413. <https://doi.org/10.1042/BJ20121070>
- [31] McLachlan, E., Shao, Q. and Laird, D.W. (2007) Connexins and Gap Junctions in Mammary Gland Development and Breast Cancer Progression. *Journal of Membrane Biology*, **218**, 107-121. <https://doi.org/10.1007/s00232-007-9052-x>
- [32] Wilson, M.R., Close, T.W. and Trosko, J.E. (2000) Cell Population Dynamics (Apoptosis, Mitosis, and Cell-Cell Communication) during Disruption of Homeostasis. *Experimental Cell Research*, **254**, 257-268. <https://doi.org/10.1006/excr.1999.4771>
- [33] Lambe, T., Finlay, D., Murphy, M. and Martin, F. (2006) Differential Expression of Connexin 43 in Mouse Mammary Cells. *Cell Biology International*, **30**, 472-479. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2006.02.008>
- [34] Talhouk, R.S., Elble, R.C., Bassam, R., *et al.* (2005) Developmental Expression Patterns and Regulation of Connexins in the Mouse Mammary Gland: Expression of Connexin30 in Lactogenesis. *Cell & Tissue Research*, **319**, 49-59. <https://doi.org/10.1007/s00441-004-0915-5>

- [35] Yamanaka, I., Kuraoka, A., Inai, T., *et al.* (1997) Changes in the Phosphorylation States of Connexin43 in Myoepithelial Cells of Lactating Rat Mammary Glands. *European Journal of Cell Biology*, **72**, 166-173.
- [36] Laird, D.W., Fistouris, P., Batist, G., Alpert, L., Huynh, H.T., Carystinos, G.D. and Alaoui-Jamali, M.A. (1999) Deficiency of Connexin43 Gap Junctions Is an Independent Marker for Breast Tumors. *Cancer Res*, **59**, 4104-4110.
- [37] Chasampalioti, M., Green, A.R., Ellis, I.O., *et al.* (2019) Connexin 43 Is an Independent Predictor of Patient Outcome in Breast Cancer Patients. *Breast Cancer Research and Treatment*, **174**, 93-102. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-5063-9>
- [38] 周霖, 张钰萍, 何丽, 尤倩, 彭飞, 吴意. 乳腺癌组织中 Cx43 表达水平及其临床意义的 Meta 分析[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(20): 108-116.
- [39] Kanczuga-Koda, L., Sulkowski, S., Lenczewski, A., *et al.* (2006) Increased Expression of Connexins 26 and 43 in Lymph Node Metastases of Breast Cancer. *Journal of Clinical Pathology*, **59**, 429-433. <https://doi.org/10.1136/jcp.2005.029272>
- [40] Elzarrad, M.K., Haroon, A., Willecke, K., Dobrowolski, R., Gillespie, M.N. and Al-Mehdi, A.B. (2008) Connexin-43 Upregulation in Micrometastases and Tumor Vasculature and Its Role in Tumor Cell Attachment to Pulmonary Endothelium. *BMC Medicine*, **6**, Article No. 20. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-6-20>
- [41] Chao, Y., Wu, Q., Acquafondata, M., Dhir, R. and Wells, A. (2012) Partial Mesenchymal to Epithelial Reverting Transition in Breast and Prostate Cancer Metastases. *Cancer Microenvironment*, **5**, 19-28. <https://doi.org/10.1007/s12307-011-0085-4>
- [42] Ito, A., Watabe, K., Koma, Y. and Kitamura, Y. (2002) An Attempt to Isolate Genes Responsible for Spontaneous and Experimental Metastasis in the Mouse Model. *Histology and Histopathology*, **17**, 951-959.
- [43] Kamibayashi, Y., Oyamada, Y., Mori, M., *et al.* (1995) Aberrant Expression of Gapjunction Proteins (Connexins) Is Associated with Tumor Progression during Multistage Mouse Skin Carcinogenesis *in Vivo*. *Carcinogenesis*, **16**, 1287-1297. <https://doi.org/10.1093/carcin/16.6.1287>
- [44] 张光谋, 徐振平, 张志谦, 胡颖. 间隙连接蛋白 Cx43 在乳腺癌组织中表达的研究[J]. 实用癌症杂志, 2002, 17(6): 594-596.
- [45] 高一菁, 陈战, 李锐, 谢晓梅, 涂永久. 连接蛋白 43 和上皮细胞钙黏蛋白在乳腺浸润性导管癌组织中表达的意义[J]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2012, 6(3): 279-286.
- [46] 张立英, 周风华, 李文通, 冯洁, 吕世军. 连接蛋白 43, Vimentin 联合检测与乳腺癌转移关系的研究[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(24): 4099-4101.
- [47] 张光谋, 徐振平, 张志谦, 胡颖. 乳腺癌中间隙连接蛋白 Cx43 和 Cx26 表达的意义[J]. 实用肿瘤杂志, 2002, 17(3): 170-172.
- [48] Fu, Y., Shao, Z.M., He, Q.Z., *et al.* (2015) Hsa-miR-206 Represses the Proliferation and Invasion of Breast Cancer Cells by Targeting Cx43. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **19**, 2091-2104.
- [49] 涂永久, 高一菁, 陈战, 李锐. 乳腺浸润性导管癌连接蛋白 43 和上皮性钙黏蛋白相关性研究[J]. 局解手术学杂志, 2014, 23(6): 586-588.
- [50] Godinho-Pereira, J., Garcia, A.R., Figueira, I., *et al.* (2021) Behind Brain Metastases Formation: Cellular and Molecular Alterations and Blood-Brain Barrier Disruption. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No. 7057. <https://doi.org/10.3390/ijms22137057>
- [51] Figueira, I., Galego, S., Custódio-Santos, T., Vicente, R., Molnár, K., Haskó, J., Malhó, R., Videira, M., Wilhelm, I., Krizbai, I., *et al.* (2021) Picturing Breast Cancer Brain Metastasis Development to Unravel Molecular Players and Cellular Crosstalk. *Cancers*, **13**, Article No. 910. <https://doi.org/10.3390/cancers13040910>
- [52] Bellahcène, A., Bachelier, R., Detry, C., *et al.* (2007) Transcriptome Analysis Reveals an Osteoblast-Like Phenotype for Human Osteotropic Breast Cancer Cells. *Breast Cancer Research and Treatment*, **101**, 135-148. <https://doi.org/10.1007/s10549-006-9279-8>
- [53] Plante, I., Stewart, M.K., Barr, K., Allan, A.L. and Laird, D.W. (2011) Cx43 Suppresses Mammary Tumor Metastasis to the Lung in a Cx43 Mutant Mouse Model of Human Disease. *Oncogene*, **30**, 1681-1692. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.551>
- [54] Lye, S.J., Nicholson, B.J., Mascarenhas, M., MacKenzie, L. and Petrocelli, T (1993) Increased Expression of Connexin-43 in the Rat Myometrium during Labor Is Associated with an Increase in the Plasma Estrogen: Progesterone Ratio. *Endocrinology*, **132**, 2380-2386. <https://doi.org/10.1210/endo.132.6.8389279>
- [55] Firestone, G.L. and Kapadia, B.J. (2012) Minireview: Regulation of Gap Junction Dynamics by Nuclear Hormone Receptors and Their Ligands. *Molecular Endocrinology*, **26**, 1798-1807. <https://doi.org/10.1210/me.2012-1065>
- [56] Conklin, C., Huntsman, D., Yorida, E., *et al.* (2007) Tissue Microarray Analysis of Connexin Expression and Its Prog-

-
- nostic Significance in Human Breast Cancer. *Cancer Letters*, **255**, 284-294. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2007.05.001>
- [57] Teleki, I., Krenacs, T., Szasz, M.A., Kulka, J., Wichmann, B., Leo, C., Papassotiropoulos, B., Riemenschnitter, C., moch, H. and varga, Z. (2013) The Potential Prognostic Value of Connexin 26 and 46 Expression in Neoadjuvant-Treated Breast Cancer. *BMC Cancer*, **13**, Article No. 50. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-13-50>
- [58] Oyamada, M., Oyamada, Y. and Takamatsu, T (2005) Regulation of Connexin Expression. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1719**, 6-23. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2005.11.002>
- [59] Renoir, J.M., Marsaud, V. and Lazennec, G. (2013) Estrogen Receptor Signaling as a Target for Novel Breast Cancer Therapeutics. *Biochemical Pharmacology*, **85**, 449-465. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.10.018>
- [60] Stoletov, K., Strnadel, J., Zardouzian, E., momiyama, m., Park, F.D., Kelber, J.A., Pizzo, D.P., Hoffman, R., vanden-Berg, S.R. and Klemke, R.L. (2013) Role of Connexins in Metastatic Breast Cancer and Melanoma Brain Colonization. *Journal of Cell Science*, **126**, 904-913. <https://doi.org/10.1242/jcs.112748>