

胃癌转移的相关基因研究进展

张庆 综述, 顾琴龙 审校

[关键词] 胃肿瘤; 肿瘤转移; 基因表达调控; 肿瘤; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 735.2 [文献标识码] A

转移是恶性肿瘤患者死亡的主要原因,也是肿瘤治疗中的最大障碍。癌的转移是一个复杂的生物学过程,与基因密切相关,转移常常伴随着某些基因的改变。

1 转移相关基因(MTA1)

随着分子生物学的发展,目前已经发现了几个与癌转移密切相关的基因,其编码的蛋白产物对癌肿的转移起关键性的正负调节作用。Pencil 等^[1]应用差异杂交技术从具有不同转移潜能的鼠乳腺癌细胞株 13762NF 中筛选克隆出 MTA1 基因,因该基因的表达与乳腺癌转移能力成正相关,故被命名为肿瘤转移相关基因。Nawa 等^[2]在人类高转移性乳腺癌细胞株中发现了 MTA1 的相关序列 MTA1,应用荧光原位杂交方法发现 MTA1 基因定位于染色体 14q32.3。人 MTA1 基因编码相对分子质量为 82 000,含 715 个氨基酸残基的蛋白质 MTA1。MTA1 蛋白羧基末端富含脯氨酸,其 696~705 残基序列为 LPPRPPPPAP,与 SH3 结合域 XPXXPPFFXP 或 XpFPpXP 完全配对。而 SH3 在信号转导通路中参与蛋白和蛋白间相互作用,构成细胞骨架组分,并在与信号转导通路中与浸润和转移相关的基因有关。随后进一步研究发现,MTA1 基因在转移癌细胞、单核细胞、嗜中性细胞、T 淋巴细胞等运动细胞中均有不同程度的表达。提示运动有关的基因表达在肿瘤转移中起重要作用。研究 MTA1 基因在胃癌中的表达与转移、浸润的相关性发现,34 例胃癌中有 13 例相对过表达 MTA1 基因。过表达 MTA1 基因的肿瘤其浆膜侵犯、淋巴结转移以及血管累及的几率显著增加。提示 MTA1 的过表达与胃癌的浸润及转移密切相关,是判断胃癌恶性程度的一个重要指标^[3,4]。

与 MTA1 基因相应,美国国立癌症研究所 Steeg 等^[5]利用消减杂交法,从转移潜力不同的 K-1735 鼠黑色素瘤细胞中克隆出 nm23 基因。此基因广泛存在于包括细菌、酵母、植物、果蝇、鼠和人体中,是具有高度同源性的保守基因家族。在每个细胞株表达分别与它们的转移能力呈负相关,并将其命名为 nm23,后命名为 nm23-H1。已有研究证实,nm23-H1 基因蛋白产物与二磷酸核苷激酶(nucleoside diphosphate kinase,NDPK)的 α -链氨基酸序列高度相似,具有相同的活性。并已确定它有两个功能在细胞生长肿瘤转移中发挥作

用:(1)通过催化 GTP→GDP 的转化参与微管蛋白的聚合与解体,从而利用微管系统,包括有丝分裂、纺锤体形成和细胞移动来调节细胞功能,改变细胞的黏附运动能力。(2)通过调节 GDP 合成参与 G 蛋白调控的跨膜信息传递,从而对细胞的分化和癌基因的转化起作用。以后又不断发现了 nm23-H2、nm23-H3、nm23-H4、nm23-H5、nm23-H6、nm23-H7、nm23-H8、nm23-H9。根据氨基酸序列的同源性和蛋白产物结构功能分析,可将这些成员分为两组:一组编码具有典型 NDPK 活性的蛋白产物,氨基酸序列的同源性较高;另一组的序列保守性不如第一组严格,一些成员还具有除 NDPK 外的独立功能结构域。nm23 基因被认为是肿瘤转移抑制相关基因的代表^[6]。其在低转移细胞株中的表达是高转移细胞株中的 10 倍。将 nm23 基因导入具有高转移表型的 K-1735TK 细胞后,该细胞的转移能力便明显下降,此种改变与癌细胞的生长速度无关,说明 nm23 具有抑制细胞转移能力的功能。对胃癌的研究表明,nm23 在胃癌原发灶中表达高于正常黏膜;在淋巴结及肝转移灶中的表达低于胃癌原发灶;在有淋巴结转移并侵犯浆膜的胃癌中,nm23 表达率低于无淋巴结转移者。另外低表达者生存期明显缩短,表明与不良预后有关^[7,8]。Park 等^[9]利用实时定量 RT-PCR 和免疫组化研究 nm23 家族中 nm23-H4、nm23-H6、nm23-H7 在胃癌中的表达发现,这 3 个成员在胃癌组织中表达比正常组织高,尤其是 nm23-H4 和 nm23-H7;而在转移的肿瘤标本中表达量不高,因而推测 nm23-H4 和 nm23-H7 可能与胃癌的发生有关,而与肿瘤转移抑制不相关。

以上研究结果及结论差异较大,可能与病例数量、种类及检测分析方法不同有关。尽管如此,许多体外转染实验却一致支持 nm23 对肿瘤细胞的运动能力、转移能力的确有抑制作用。然而体内各种因素相互作用情况复杂,且 nm23 家族的各个成员表达情况和功能差异使 nm23 基因在不同类型的肿瘤中或在不同的个体或同一肿瘤进程的不同阶段,对肿瘤转移可能产生不同的影响。

2 癌基因、抑癌基因

过去一度认为癌基因及抑癌基因仅参与肿瘤的发生,而随着研究的进展发现癌基因及抑癌基因也参与肿瘤的转移过程,与肿瘤的浸润及转移有密切关系。

2.1 c-erbB-2 原癌基因 又称 Her-2/neu 基因,定位于人染色体 17q21,编码产物是一种分子量为 185 kDa 跨膜蛋白(P185),是人类表皮生长因子受体(EGFR 或 HER)家族的第二号成员。其蛋白产物具有酪氨酸激酶活性,可能通过促进 β -catenin 的异常磷酸化,使其功能异常,进而使 E-cadherin

[收稿日期] 2008-09-10

[作者单位] 上海交通大学医学院附属瑞金医院 外科,上海消化外科研究所,上海 200025

[作者简介] 张庆(1965-),男,博士研究生。

[通讯作者] 顾琴龙,博士,博士生导师,教授。

介导的细胞黏附作用受到抑制,促进肿瘤的侵袭及转移。许多研究表明,基因 *c-erb-B-2* 表达与肿瘤浸润深度及淋巴结转移有关,表达率高的胃癌患者,易发生淋巴结转移与腹膜种植;并认为术前组织活检测定 *c-erb-B-2* 基因的表达有助于判断胃癌的恶性程度,制定手术切除和淋巴结清扫范围,估计预后^[10,11]。

2.2 Ets 原癌基因 Ets 家族是最大的信号依赖转录调控因子家族之一,依据 Ets 结构域的同源性,可将 Ets 家族分为 Ets、ERG、ELG、Elf 等几个亚族。其中 Ets 亚族由 Ets-1 与 Ets-2 组成。Ets 基因家族在胚胎时期为中胚层细胞发育编码转录因子,Ets 在细胞增殖及分化等生理过程中发挥调节作用。胚胎期基因家族有一定量表达,尤其在胃部。然而到胎儿后期,其表达显著降低。Ets-1 位于染色体 11q23,其蛋白羧基末端包含一个由 85 个氨基酸组成的特异 DNA 结合区,能识别并结合富含嘌呤的 DNA 核心序列 GGAA/T,该序列存在于许多基因的 5'-侧翼调节区,有反式活化功能。Ets-1 主要通过调节细胞外基质重建,促使细胞迁移和促进血管生成等方面起作用,研究证实编码转录因子的 Ets1 基因参与基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP) 基因增强子的体外转录和尿激酶型纤维蛋白溶酶原激活剂(urokinase plasminogen activator, uPA) 增强子的转录。因此 Ets-1 有可能通过刺激 MMP、组织蛋白酶和 uPA 的表达来降解细胞外基质,促进肿瘤浸润。Tsutsumi 等^[12] 研究了 124 例胃癌中的 Ets-1 的表达结果表明,正常胃黏膜 Ets-1 表达阴性。胃癌中的表达率为 51.6%,随着肿瘤的浸润深度增加,淋巴管浸润,淋巴结和远处转移的胃癌中其表达明显增强,表达阳性的患者生存期缩短,从而表明 Ets-1 的表达与胃癌的侵袭相关。

2.3 Ras 原癌基因 Ras 基因是第一个被鉴定的人类癌基因,其家族有 Ki-Ras、N-Ras 和 Ha-Ras 三个主要成员,是在人类肿瘤中最常见的癌基因,约在 15% 的人类恶性肿瘤中被检出。他们编码一组密切相关的蛋白质,含 188 ~ 189 个氨基酸,相对分子量为 21 000,故又称 Ras p21, p21 能与鸟苷三磷酸(GTP)结合,具有 GTP 酶的活性,能传递生长信号,是调节正常细胞生长和分泌不可缺少的中介物,并在细胞癌变及恶性表型维持中起重要作用。大约三分之一的国人胃癌组织中可以检测到 Ha-Ras 的点突变,且发现与远处转移和生存率有相关性。国内学者发现胃癌 Ha-Ras 的表达与 VEGF 的表达密切相关,Ha-Ras 阳性的胃癌 VEGF 的表达显著高于阴性者,提示 Ha-Ras 可调节 VEGF 的表达,介导血管生成,从而促进肿瘤的生长浸润^[13]。Li 等^[14] 研究了 K-Ras 和 COX-2 在 89 例胃癌中的表达,发现 55 例 K-Ras 表达阳性,K-Ras 阳性与浸润深度和淋巴结转移和预后有关。

2.4 K-sam 基因 K-sam 基因是从弥漫型胃癌的 KATO-III 细胞系分离出来的,并在一些弥漫型中选择性扩增,而不在肠型胃癌中扩增。该基因编码几种生长因子受体,如角化细胞生长因子受体和成纤维细胞生长因子受体,目前认为 K-sam 基因的表达在弥漫型胃癌发生中起重要作用。而 Yoshida 等^[15] 研究结果则表明,K-sam 基因在胃癌中的表达

率为 31.9%,多因素分析显示 K-sam 基因是一个重要的预后因子,与胃癌的淋巴结转移和浸润深度相关。

2.5 survivin 基因 耶鲁大学 Ambrosini 等^[16] 在人类基因组文库中筛选出,定位于染色体 17q25,由 4 个外显子和 3 个内含子组成。编码一个分子质量为 16.5×10^3 ,由 142 个氨基酸组成的蛋白。survivin 是同源二聚体,每个单体分子含有 1 个杆状病毒重复区(baculo virus IAP repeat, BIR),但缺乏羧基末端的环指结构,代之以 40 个氨基酸组成的 α 螺旋结构,在氨基端只含有 1 个保守 Cys/HiBIR 功能区,是迄今为止发现最强的凋亡抑制因子,直接作用于 caspase,主要抑制 caspase-3、caspase-7 的活性,阻断细胞的凋亡过程;另外还通过 p21 抑制 caspase。survivin 除了参与细胞凋亡调节外,在肿瘤血管增生过程中,survivin 与 VEGF 存在正协同作用从而参与肿瘤血管形成。survivin 在正常情况下仅表达于胚胎组织和发育中的胎儿组织,在除甲状腺、胸腺及生殖腺以外的分化成熟的成人组织中不表达或仅低度表达,而在绝大多数肿瘤组织中表达阳性。研究发现,survivin mRNA 在癌组织中表达显著高于非癌组织,在伴淋巴结转移的胃癌中显著高于不伴淋巴结转移者,survivin 高表达和淋巴结转移的关联源于 survivin 的表达和微血管密度相关^[17]。

2.6 p53 抑癌基因 p53 抑癌基因位于染色体 17p13.1,长度约 20 kbp,由 11 个外显子和 10 个内含子组成,其编码由 393 个氨基酸组成、分子量为 53 kDa 的核磷酸化蛋白。正常野生型的 p53 基因是一类重要的抑癌基因,参与细胞周期调控,促进细胞凋亡,维持基因组的稳定性,p53 能刺激抑制血管生成基因 Smad4 等的表达,抑制肿瘤血管形成。而突变型的 p53 则无此功能。p53 是迄今发现的突变频率最高的抑癌基因,已在 50% 的人类肿瘤中发现了 p53 基因突变。研究表明 p53 表达与血管侵袭、淋巴结转移显著相关,与胃癌的总生存率及肠型胃癌的生存率有关,也与胃癌的侵袭性生物行为有关^[18]。

2.7 PTEN 基因 PTEN 基因定位于染色体 10q23.3,全长 200 kDa,有 9 个外显子和 8 个内含子,是一种具有磷酸酶活性的抑癌基因,编码一个含有 403 个氨基酸的多功能蛋白质。PTEN 可通过三磷脂酰肌醇激酶途径调节细胞周期;通过 FAK 途径抑制细胞的浸润、转移;通过蛋白激酶途径参与细胞转化和细胞周期调控。PTEN 基因表达缺失可促进胃癌组织血管生成,并在胃癌的进展和转移中起关键作用^[19];其下调表达在胃癌的发生、进展、生长、分化和血管生长中起重要作用^[20]。

2.8 FHIT 基因 FHIT 基因长约 106 个碱基,位于染色体 3p14.2,由 Ohta 等^[21] 利用定位克隆技术及外显子捕获法发现的一种抑癌基因,FHIT 基因编码的蛋白质由 147 个氨基酸组成,FHIT 蛋白可调控细胞周期,诱导细胞凋亡,降解促使细胞增殖的二腺苷三磷酸(AP3A)。研究表明,FHIT 表达缺失在弥漫型胃癌中的发生率高于肠型,也与胃癌的分期、淋巴结转移、远处转移、组织学类型及预后有关^[22]。

2.9 其他 国内学者研究了 CK18 基因与胃癌微转移的关系,RT-PCR 显示 298 个淋巴结中 44% 阳性,54 例胃癌患者

外周血检测 38.9% 呈 CK18 阳性,非肿瘤患者对照全部阴性。提示 CK18 阳性与淋巴结转移相关^[23]。有学者提出 CD54 表达可抑制肿瘤淋巴转移,其表达下降增加淋巴转移,表达阴性者预后较差^[24]。台湾学者 Lo 等^[25]研究了 TNF- α 受体-CD40 在胃癌的表达,CD40 在膨胀型胃癌表达较高,尤其是肝脏转移时呈高表达,也许对肿瘤血行转移起促进作用。B7-1 基因可有效抑制胃癌淋巴结转移,将 B7-1 基因转入胃癌细胞后,细胞生长变慢,接种裸鼠后肿瘤生长较慢,Sakate 等^[26]认为 B7-1 基因可增强单核细胞对肿瘤细胞的黏附和毒性。

其它原癌基因如 CA11、C-myc、Tiam1 基因以及抑癌基因如 *nibi*、*kiss-1* 基因与胃癌侵袭转移的关系有待深入研究^[27]。进一步了解恶性肿瘤转移的基因变化有助于解释转移机制,从而为抗转移治疗提供理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] Pencil SD, Toh Y, Nicolson GL. Candidate metastasis-associated genes of the rat 13762NF mammary adenocarcinoma[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1993, 25(2): 165-174.
- [2] Nawa A, Nishimori K, Lin P, et al. Tumor metastasis-associated human MTA1 gene: its deduced protein sequence, localization, and association with breast cancer cell proliferation using antisense phosphorothioate oligonucleotides[J]. *J Cell Biochem*, 2000, 79(2): 202-212.
- [3] Toh Y, Oki E, Oda S, et al. Overexpression of the MTA1 gene in gastrointestinal carcinomas: correlation with invasion and metastasis[J]. *Int J Cancer*, 1997, 74(4): 459-463.
- [4] Kidd M, Modlin IM, Mane SM, et al. Utility of molecular genetic signatures in the delineation of gastric neoplasia[J]. *Cancer*, 2006, 106(7): 1480-1488.
- [5] Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, et al. Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1988, 80(3): 200-204.
- [6] Terada R, Yasutake T, Nakamura S, et al. Clinical significance of nm23 expression and chromosome 17 numerical aberrations in primary gastric cancer[J]. *Med Oncol*, 2002, 19(4): 239-248.
- [7] Guan-Zhen Y, Ying C, Can-Rong N, et al. Reduced protein expression of metastasis-related genes (nm23, KISS1, KAI1 and p53) in lymph node and liver metastases of gastric cancer[J]. *Int J Exp Pathol*, 2007, 88(3): 175-183.
- [8] Lee KE, Lee HJ, Kim YH, et al. Prognostic significance of p53, nm23, PCNA and c-erbB-2 in gastric cancer[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2003, 33(4): 173-179.
- [9] Seifert M, Welter C, Mehraein Y, et al. Expression of the nm23 homologues nm23-H4, nm23-H6, and nm23-H7 in human gastric and colon cancer[J]. *J Pathol*, 2005, 205(5): 623-632.
- [10] Mönig SP, Nolden B, Lübke T, et al. Clinical significance of nm23 gene expression in gastric cancer[J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(4C): 3029-3033.
- [11] Allgayer H, Babic R, Gruetzner KU, et al. C-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems[J]. *J Clin Oncol*, 2000, 18(11): 2201-2209.
- [12] Tsutsumi S, Kuwano H, Nagashima N, et al. Ets-1 expression in gastric cancer[J]. *Hepatogastroenterology*, 2005, 52(62): 654-656.
- [13] 明学志,尹浩然,朱正纲,等.胃癌组织中 H-ras 和 VEGF 的表达与血管生成的关系及其临床意义[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2006, 13(5): 357-360, 387.
- [14] Li M, Liu W, Zhu YF, et al. Correlation of COX-2 and K-ras expression to clinical outcome in gastric cancer[J]. *Acta Oncol*, 2006, 45(8): 1115-1119.
- [15] Yoshida K, Yasui W, Yokozaki H, et al. New molecular prognostic markers in gastric carcinoma[J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 1998, 25(13): 2021-2027.
- [16] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma[J]. *Nat Med*, 1997, 3(8): 917-921.
- [17] Miyachi K, Sasaki K, Onodera S, et al. Correlation between survivin mRNA expression and lymph node metastasis in gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2003, 6(4): 217-224.
- [18] Pinto-de-Sousa J, Silva F, David L, et al. Clinicopathological significance and survival influence of p53 protein expression in gastric carcinoma[J]. *Histopathology*, 2004, 44(4): 323-331.
- [19] Park GS, Joo YE, Kim HS, et al. Expression of PTEN and its correlation with angiogenesis in gastric carcinoma[J]. *Korean J Gastroenterol*, 2005, 46(3): 196-203.
- [20] Zheng HC, Li YL, Sun JM, et al. Growth, invasion, metastasis, differentiation, angiogenesis and apoptosis of gastric cancer regulated by expression of PTEN encoding products[J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(8): 1662-1666.
- [21] Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, et al. The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3:8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers[J]. *Cell*, 1996, 84(4): 587-597.
- [22] Zhao P, Liu W, Lu YL. Clinicopathological significance of FHIT protein expression in gastric adenocarcinoma patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(36): 5735-5738.
- [23] Xu W, Zhang MW, Huang J, et al. Correlation between CK18 gene and gastric carcinoma micrometastasis[J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(41): 6530-6534.
- [24] Yashiro M, Sunami T, Hirakawa K. CD54 expression is predictive for lymphatic spread in human[J]. *Gastric carcinoma*, 2005, 50(12): 2224-2230.
- [25] Lo SS, Wu CW, Chi CW, et al. High CD40 expression in gastric cancer associated with expanding type histology and liver metastasis[J]. *Hepatogastroenterology*, 2005, 52(66): 1902-1904.
- [26] Sakate Y, Yashiro M, Tanaka H, et al. Usefulness of inhibiting the lymph node metastasis in human gastric carcinoma by B7-1 gene transfection[J]. *J Surg Res*, 2004, 122(1): 89-95.
- [27] Shiozaki K, Nakamori S, Tsujie M, et al. Human stomach-specific gene, CA11, is down-regulated in gastric cancer[J]. *Int J Oncol*, 2001, 19(4): 701-707.