

[文章编号] 1000-2200(2009)03-0267-03

· 综述 ·

nm23 和 Bcl-2 基因在甲状腺肿瘤中的研究进展

曲真真¹ 综述,石建华¹,汪万英² 审校

[关键词] 甲状腺肿瘤;nm23;Bcl-2;肿瘤转移;细胞凋亡;综述

[中国图书资料分类法分类号] R 736.1 [文献标识码] A

甲状腺癌是头颈部常见的恶性肿瘤之一,可分为多种类型,病理上主要分为乳头状腺癌、滤泡状腺癌、未分化癌、髓样癌,各类型的生长规律、转移速度及预后均有较大差异,因此研究其发生、发展机制对临床指导治疗具有重要意义^[1]。随着在分子和蛋白水平上对甲状腺癌研究的不断进展,现已发现许多基因与甲状腺癌的发生、发展、转归有联系。目前认为,除了原癌基因的激活与肿瘤抑制基因的失活,细胞增殖与凋亡之间的平衡失调也是肿瘤发生发展的重要原因。而 nm23 作为一种肿瘤转移抑制基因及 Bcl-2 作为一种抑制细胞凋亡基因在甲状腺癌的研究中始终是一个热点。本文就 nm23 和 Bcl-2 基因在甲状腺肿瘤中的相关研究作一综述。

1 nm23 基因的特点及其与甲状腺肿瘤的关系

1.1 nm23 分子结构 nm23 基因定位于染色体 17q21.3^[2], 是一类结构和功能相对保守的基因大家族,其成员均含有 4~6 个极为相似的折叠亚单位,该基因全长 8.5 kbp,由 5 个外显子和 4 个内含子组成,编码蛋白质分子量约 17 kDa,已发现 nm23 基因中有 9 个 nm23 基因家族成员^[3]。nm23 基因家族可以分为两组:第一组包括 nm23-H1~H4 基因,它们的 DNA 序列有高度的同源性,编码的蛋白产物具有核苷二磷酸激酶 (nucleoside diphosphate kinase, NDPK) 活性;第二组由 nm23-H5~H9 基因组成^[4]。目前临床研究最多的是 nm23-H1 和 nm23-H2 基因,两者氨基酸序列同源性达 88%,而且有 94% 的氨基酸组成是相同的。

1.2 nm23 的表达产物及功能特点 nm23 基因蛋白产物就是核苷二磷酸激酶 (NDPK),nm23 基因被认为是一种能抑制肿瘤转移表型的转移抑制基因^[5],nm23 基因编码与 NDPK 高度同源的蛋白产物,其本身具有 NDPK 活性,预示着 nm23 基因的作用机制与 NDPK 相关^[6]。NDPK 是一类广泛存在,能催化多种反应,具有复杂生物学功能的酶。NDPK 的分子量为 17 kDa,它的 A、B 两条链通过随机组合而形成等电点不同的系列同功酶,NDPK 结构的多态性决定了其功能的多样性。它被认为至少参与两个起重要作用的生物学过程:一是参与微管蛋白的聚合与解体;二是参与 G 蛋白介导的信号传递。NDPK 通过酶联和高能磷酸键催化 5'NTP 的 C2 磷酸基团转移到 5'NDP 上,而将 GDP 还原为 GTP,使 G 蛋白变为活性状态,并以此方式调节大量 G 蛋白介导的细胞信号传导反应,进而参与发育及肿瘤的发展;另一方面,NDPK 的磷酸作用产生的 GTP 可直接影响微丝、微管等细胞骨架蛋白的

生物活动,通过参与调节细胞内微管系统的状态而抑制肿瘤的转移。

1.3 nm23 基因及其蛋白产物在甲状腺肿瘤中的表达

nm23 基因是转移抑制基因,其表达与许多肿瘤的淋巴结转移呈负相关^[7,8]。nm23 的生物学意义不仅在不同组织器官的肿瘤不一样,而且在同一器官的不同组织学类型的肿瘤也不一样。nm23 基因在甲状腺癌中的表达存在很大的争论,体现在 nm23 基因表达与甲状腺癌转移的相关性不确切。Zou 等^[9]运用聚合酶链反应 (PCR) 一单链构像多态性分析 (SSCP) 等方法研究发现,nm23 基因在甲状腺良性病变和恶性组织中均有表达。在 I~III 期分化性甲状腺癌中,nm23 平均表达水平与结节性甲状腺肿中的表达水平相近,而在高度恶性的甲状腺癌中 (IV 期和间变性癌),nm23 mRNA 表达水平则是它们的 2 倍,提示 nm23 mRNA 水平不能作为甲状腺癌低转移潜能的标志,并认为在甲状腺癌中,nm23 高水平表达与淋巴结转移的发生和细胞快速增殖有关,它可能是一个反映肿瘤侵袭性的标记。Zafon 等^[10]报道 nm23-H1 蛋白的表达与甲状腺滤泡性癌的转移和病死率呈负相关,但与乳头状癌无相关性,并发现在甲状腺滤泡状癌中,nm23-H1 的表达与肿瘤转移呈明显的负相关。Liu 等^[11]通过免疫组织化学染色发现,发生转移的甲状腺乳头状癌组织中 nm23-H1 的表达率及表达强度均低于初发的乳头状癌组织。何晓燕等^[12]发现 nm23 基因表达阳性率与甲状腺乳头状癌的淋巴结转移呈负相关 ($P < 0.05$)。张金江等^[13]研究了 nm23-H1 基因表达与甲状腺乳头状癌转移与预后的关系,结果显示 nm23-H1 阳性表达率为 56.5% (26/46),阳性产物表达于细胞质和细胞核,呈棕黄色颗粒。10 例正常甲状腺组织内有不同程度的阳性反应,伴有浸润和颈部淋巴结转移者 nm23-H1 阳性表达率均显著低于无浸润和无淋巴结转移者 ($P < 0.05$),提示 nm23-H1 具有抑制 PTC 浸润转移的作用,检测 nm23 蛋白可作为评估其预后的一个有价值的指标。方海飞等^[14]报道 nm23-H1 抑制甲状腺癌肿瘤微血管形成,在抑制肿瘤转移中起重要的作用。

2 Bcl-2 基因及其与甲状腺肿瘤的关系

目前认为,除了原癌基因的激活与肿瘤抑制基因的失活是肿瘤发生发展的重要原因,细胞增殖与凋亡之间的平衡失调也是其重要原因。而 Bcl-2 基因就是近年来研究的较多的与甲状腺癌细胞凋亡相关的基因。

2.1 Bcl-2 基因家族 Bcl-2 基因即 B 细胞淋巴瘤/白血病基因 2 (B-cell lymphoma/leukemia-2),是 Tsujimoto 等^[15]于 1984 年首次在滤泡型 B 淋巴瘤中发现,由此命名 Bcl-2。正常位于 18 号染色体的长臂 2 区 1 带,开始是通过染色体易位 (14,18) 断裂点的分子克隆方法,从滤泡型淋巴细胞瘤中

[收稿日期] 2008-06-26

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 1. 内分泌科 2. 中心实验室,安徽蚌埠 233004

[作者简介] 曲真真 (1981-),女,硕士研究生。

分离出来的,被人们认为是人类滤泡型淋巴瘤的细胞遗传学标志,由2个外显子组成。研究证实^[16,17], Bcl-2基因有阻滞细胞凋亡发生的作用,是一种细胞凋亡抑制基因,最早发现于滤泡性B细胞性淋巴瘤中,其产物 Bcl-2蛋白可抑制细胞凋亡,延长细胞生存期。

Bcl-2基因家族成员按结构和功能不同可分为两大类:前凋亡蛋白类,包括 Bax、Bak 和 Bad 等;抗凋亡蛋白类,包括 Bcl-2、Bcl-x 等。Bcl-2 家族成员蛋白质产物的共同结构特征都包括两大结构域,羧基端跨膜结构域(TM)和数量不等的 Bcl-2 同源结构域(BH)。抗凋亡蛋白类中绝大多数成员的蛋白质产物含 BH1 和 BH2 结构域;BH3 是前凋亡蛋白类成员蛋白质产物的共同结构域。通过 BH1 和 BH2 可以形成各种同源二聚体和(或)异源二聚体,从而产生对细胞凋亡不同的调节作用^[18]。

2.2 Bcl-2 基因在甲状腺肿瘤发生发展中的作用 Bcl-2 作为细胞凋亡基因在肿瘤研究中被广为重视。Bcl-2 表达可以使 DNA 损伤及有丝分裂缺陷的细胞发生凋亡障碍^[19],其过表达已被证实存在于多种肿瘤中,其阳性高表达与肿瘤分化程度呈正相关。研究表明^[20,21],对于甲状腺癌,肿瘤组织学类型、年龄、淋巴结转移情况及临床病理分期是评估预后的主要指标。最近有文献报道^[22],甲状腺癌组织中 Bcl-2 蛋白的表达与其分化程度有关,分化较高的甲状腺癌组织中 Bcl-2 表达较强。赖非云等^[23]研究 Bcl-2 的表达与甲状腺癌的发生、发展及预后的关系,结果显示,在甲状腺癌组织中 Bcl-2 阳性率为 44.6%,高于甲状腺腺瘤组织(22.0%)($P=0.012$)、癌旁甲状腺组织(16.7%)($P=0.008$)和正常甲状腺组织(0%)($P=0.0000$);在分化程度很低的未分化癌和分化程度相对较低的髓样癌中, Bcl-2 的表达率分别为 100.0% 与 83.3%,明显高于乳头状癌 Bcl-2 的表达率(31.7%);在有淋巴结转移的病例或临床进展期甲状腺癌病例中,癌组织中 Bcl-2 的表达明显增强;存在淋巴结转移和临床 III、IV 期病例中, Bcl-2 的阳性率明显增高,差异均具有统计学意义,揭示出从正常甲状腺—甲状腺腺瘤—甲状腺癌—甲状腺癌, Bcl-2 表达有显著递增趋势,说明 Bcl-2 阳性提示甲状腺癌预后较差,并且表达程度越高,预后也就越差。甲状腺癌组织 Bcl-2 高表达与其分化程度、组织学亚型、增殖侵袭能力、淋巴结转移以及预后有关,可作为判断甲状腺癌预后的一个重要参考指标。Aksoy 等^[24]研究 Bcl-2 在甲状腺乳头状癌中的表达及预后发现,甲状腺乳头状癌组 31 例中有 2 例发生局部转移(6.4%),且 Bcl-2 染色均阳性($P>0.05$);31 例甲状腺乳头状癌病例中,4 例 MACIS 评分 >7 的 Bcl-2 的染色为阳性。MACIS 评分 <7 的 27 例中有 21 例 Bcl-2 的染色为阳性($P>0.05$);甲状腺乳头状微灶癌中 Bcl-2 的表达率与正常甲状腺组织相比是下降的,提示 Bcl-2 可能是肿瘤生成的早期标志,而且是微灶癌预后良好的原因。许力等^[25]发现甲状腺乳头状癌中 Bcl-2 的表达明显高于甲状腺良性肿瘤。李寒等^[26]研究 Bcl-2 蛋白在甲状腺肿瘤中的表达,结果显示甲状腺癌中 Bcl-2 基因蛋白表达阳性率为 62.79%,显著高于正常甲状腺组织($P<0.01$),因此, Bcl-2 基因表达对预测甲状腺癌转移和评估预后具有重要参考价值。

综上所述, nm23 基因可作为独立指标对淋巴结转移起作用,它的高表达抑制淋巴结转移, Bcl-2 基因通过阻断细胞凋亡从而发生细胞的不断增殖形成肿瘤。两者在甲状腺肿瘤的发生和转移过程中均起重要作用,但其具体机制有待进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 李甘地. 内分泌系统疾病. 病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 386-387.
- [2] Postel EH. NM23-NDP kinase[J]. Int J Biochem Cell Biol, 1998, 30(12): 1291-1295.
- [3] 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.
- [4] Sadek CM, Jiménez A, Damdimopoulos AE, et al. Characterization of human thioredoxin like novel microtubulebinding thioredoxin expressed predominantly in the cilia of lung airway epithelium and spermatid manchette and axoneme[J]. J Biol Chem, 2003, 278(15): 13133-13142.
- [5] Valentijn LJ, Koster J, Versteeg R. Read through transcript from nm23-H1 into the neighboring nm23-H2 gene encodes a novel protein, NM23-LV[J]. Genomics, 2006, 87(4): 483-489.
- [6] Takahashi M, Une R, Fukushima K, et al. Molecular cloning of canine nm23 cDNAs and their expression in normal and tumor tissues[J]. J Vet Med Sci, 2005, 67(8): 837-841.
- [7] 马 岚, nm23、P21 及 P53 基因在甲状腺肿瘤中的研究进展[J]. 兰州医学院学报, 2002, 28(3): 96-98.
- [8] 王锡山, 薛英威, 董蔚舒, 等. 结肠癌 p21、nm23 基因表达联合检测的意义[J]. 实用肿瘤学杂志, 2001, 15(4): 264-265.
- [9] Zou M, Shi Y, al-Sedairy S, et al. High levels of Nm23 gene expression in advanced stage of thyroid carcinomas[J]. Br J Cancer, 1993, 68(2): 385-388.
- [10] Zafon C, Obiols G, Castellví J, et al. nm23-H1 immunoreactivity as a prognostic factor in differentiated thyroid carcinoma[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(8): 3975-3980.
- [11] 刘 岩, 江昌新, 谭郁彬. 甲状腺滤泡癌和乳头状癌细胞黏附分子与转移抑制基因 nm23-H1 蛋白表达的关系[J]. 中华病理学杂志, 2002, 31(4): 322-326.
- [12] 何晓燕, 骆利康, 郑 俊. VEGF 和 nm23 在甲状腺乳头状癌中的表达及其病理意义[J]. 浙江临床医学, 2008, 10(8): 1012-1013.
- [13] 张金江, 尚培中, 谷化平, 等. CD15s 和 nm23H1 在甲状腺乳头状癌表达研究[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(3): 530-531.
- [14] 方海飞, 沈美萍, 徐银峰. 甲状腺乳头状癌 nm23-H1、CD31 表达与肿瘤转移关系的研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31(3): 310-312.
- [15] Müller-Hocker J. Immunoreactivity of p53, Ki-67, and Bcl-2 in oncocyctic adenomas and carcinomas of the thyroid gland[J]. Hum Pathol, 1999, 30(8): 926-933.
- [16] Soda G, Antonaci A, Bosco D, et al. Expression of bcl-2, c-erbB-2, p53, and p21 (waf1-cip1) protein in thyroid carcinomas[J]. J Exp Clin Cancer Res, 1999, 18(3): 363-367.
- [17] Sreelekha TT, Pradeep VM, Vijayalakshmi K, et al. In situ apoptosis in the thyroid[J]. Thyroid, 2000, 10(2): 117-122.
- [18] Zamzami N, Brenner C, Marzo I, et al. Subcellular and submitochondrial mode of action of Bcl-2-like oncoproteins[J].

- Oncogene, 1998, 16(17): 2 265 - 2 282
- [19] Okada H, Mak TW. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells[J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(8): 592 - 603.
- [20] 张林, 吴亚群. 分化型甲状腺癌的预后评估和监测[J]. 实用临床医药杂志, 2004, 8(3): 3 - 5.
- [21] 陈福进, 李秋梨, 曾宗渊, 等. 分化型甲状腺癌的治疗及影响复发的因素分析[J]. 癌症, 2004, 23(11): 1311 - 1316.
- [22] Siironen P, Nordling S, Louhimo J, et al. Immunohistochemical expression of Bcl-2, Ki-67, and p21 in patients with papillary thyroid cancer[J]. Tumour Biol, 2005, 26(1): 50 - 56.
- [23] 赖非云, 张 诤, 杨传盛, 等. Bcl-2 在甲状腺癌组织中的表达及意义[J]. 实用癌症杂志, 2007, 22(6): 600 - 602.
- [24] Aksoy M, Giles Y, Kapran Y, et al. Expression of bcl-2 in papillary thyroid cancers and its prognostic value[J]. Acta Chir Belg, 2005, 105(6): 644 - 648.
- [25] 许力, 芮景, 李仁志, 等. Bcl-2 和 ER 在甲状腺乳头状癌中的表达及意义[J]. 解剖与临床, 2008, 13(2): 96 - 99.
- [26] 李寒, 郑笑娟, 陈永兴, 等. bcl-2 和 bax 蛋白在甲状腺肿瘤中的表达及意义[J]. 黑龙江医药科学, 2007, 30(5): 3 - 4.

[文章编号] 1000-2200(2009)03-0269-03

· 综 述 ·

血管抑素对糖尿病肾病作用和治疗的研究进展

王国强 综述, 陈卫东 审校

[关键词] 糖尿病肾病; 血管抑素; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 692.39 [文献标识码] A

1994 年, O'Reilly 等^[1]在荷瘤小鼠血清中, 发现了一种能特异性抑制肿瘤血管内皮细胞增殖的因子, 称为血管抑素(angiotatin, AG)。它能强烈抑制肿瘤血管内皮细胞的增殖、迁移并促其凋亡, 从而抑制肿瘤细胞的生长和转移^[2,3]。此外, 已有研究发现, 血管抑素对糖尿病视网膜新生血管有抑制作用^[4]。近来研究发现, 血管抑素对糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的病理也有改善作用, 本文就这一研究进展作一综述。

1 血管抑素的结构与来源

序列分析表明, AG 是纤溶酶原水解后的产物, 属于内生性糖蛋白, 它包含人纤溶酶原的前 4 个 Kringle 结构, 此结构具有高度的同源性。而纤溶酶原是由 791 个氨基酸和一些糖链组成的糖蛋白, 具有 5 个 Kringle 环结构^[5]。纤溶酶原因其激活物作用位点的不同而产生 AG 的结构也各异, 这些 AG 对内皮细胞生长活性的抑制也各不相同, Kringle 1~5 各个组合后也具有不同的抑制内皮细胞生长的活性作用, 同时各个 Kringle 结构域的作用具有协同性^[6]。

2 血管抑素的产生途径

AG 可以通过多种方式产生。在体外, AG 可由 2 条途径产生: (1) 由基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)、弹性蛋白酶对人纤溶酶原的限制性酶解产生^[7]; (2) 是由人前列腺癌细胞系产生的丝氨酸蛋白酶的酶解作用产生。在体内其产生机制比较复杂, 目前研究的主要有 4 条途径: (1) 生理条件下各种纤溶酶原激活物作用于纤溶酶原而产生不同结构的 AG; (2) 某些肿瘤细胞能分泌尿激酶型纤溶酶原激活物, 直接裂解纤溶酶原转变为纤溶酶, 再在自由巯基供体的作用下, 纤溶酶分子同时作为底物和酶将自身转变成 AG; (3) 肿瘤细胞本身能直接产生 MMPs, 使纤溶酶原裂解生成 AG; (4) 肿瘤细胞产生的粒-巨细胞集落刺激因子

(GM-CSF) 刺激肿瘤浸润巨噬细胞产生金属弹性蛋白酶(MME), 使纤溶酶原降解为 AG。AG 也可以通过人工方法合成, 合成途径主要有重组法、转基因法和体内降解法。(1) 重组法: 将某种 AG 的编码基因转入毕赤酵母菌属表达系统或哺乳类表达系统进行表达提纯, 便可获得该种 AG 的纯化制剂^[8]。(2) 转基因法: 应用基因工程方法, 以逆转录病毒和腺病毒等为载体构建带有 AG 基因的重组体, 经不同方法感染肿瘤细胞后表达产生 AG^[9]。(3) 体内降解法: 给患者注射纤溶酶原激活物(如尿激酶)或组织纤溶酶原激活物和自由巯基供体(如 N-乙酰胱氨酸), 使患者体内纤溶酶原转化为 AG, 这种方法与 AG 生成的自然途径极为相似, 是一种值得探索的途径。

3 血管抑素的生物学效应

Moser 等^[10]认为, AG 与细胞表面 ATP 酶的 α 、 β 亚单位结合后, 通过抑制内皮细胞表面 ATP 的代谢, 并下调内皮细胞的增殖和迁移而产生抗血管生成效应。此外, AG 还对血管生成具有间接抑制作用, 表现在 AG 可有效抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)诱导的 caveolin-1 下调, 从而抑制内皮细胞增殖^[11]; AG 可抑制中性粒细胞 ATP 合酶和 angiotatin 的 mRNA 表达, 通过中性粒细胞间接地对血管生成起到抑制作用^[12]。通过以上作用机制, AG 可以产生以下生物学功能: 通过抑制血管内皮细胞的增生、抑制内皮细胞的迁移、促进内皮细胞的凋亡等达到特异性地抑制肿瘤部位毛细血管芽生的目的, 进而阻断肿瘤的血供, 使肿瘤细胞大量凋亡^[13], 并使肿瘤的增殖与凋亡处于平衡, 即肿瘤休眠状态, 而对正常细胞和肿瘤细胞的增殖无抑制作用。

4 血管抑素对 DN 发生发展的影响

Osterby 等^[14]认为, 虽然肾小球系膜细胞和足细胞是糖尿病肾脏病变的主要介体, 但糖尿病导致的肾脏微血管增生在 DN 发病机制中也扮演了重要角色。和糖尿病视网膜病变变相类似, 1 型糖尿病患者肾组织活检发现, 血管再生导致肾

[收稿日期] 2008-03-28

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 肾内科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 王国强(1980-), 男, 硕士研究生, 住院医师。