

整合素与卵巢癌转移的相关性研究进展

张小鹏 综述, 王晓玉 审校

[关键词] 卵巢肿瘤; 转移; 整合素; 相关性; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 737.31 [文献标识码] A

卵巢癌的发病率在女性生殖系统肿瘤中占第三位,但其病死率却居第一位^[1],其5年生存率也仅为30%左右,严重危害妇女的身心健康。因此,研究卵巢癌的转移机制,明确与转移相关的因素,进而采取行之有效的阻断治疗措施,已成为提高疗效的关键,也是国内外卵巢癌研究的热点课题。近年来对卵巢癌转移机制的研究显示,由整合素介导的细胞间及与细胞外基质的相互作用等信号事件在卵巢肿瘤形成、生长、侵袭、转移诸多过程中起重要作用,本文就整合素及其在卵巢癌转移的作用进行综述。

1 整合素的结构与功能

1.1 整合素的结构 整合素是广泛存在于各种脊椎动物细胞膜的受体,是由 α 和 β 2个亚单位形成的异二聚体。迄今已发现18种 α 亚单位和9种 β 亚单位。它们按不同的组合构成20余种,介导细胞与细胞之间及细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)之间的相互作用。 α 、 β 2种亚基在细胞表面以非共价键连接,都有较长的细胞外片段、跨膜片段和较短的细胞内片段。细胞外片段是黏附分子与其配体结合部位,跨膜区域相对保守,但近膜区域侧存在许多细胞因子及其他可溶性调节因子与此作用调节整合素功能。细胞内片段形态多样,直接或间接与细胞骨架蛋白连接可引起细胞的形态变化,也可激活细胞内酶链系统,引发信号转导。 α 亚单位的N端有结合二价阳离子的结构域,细胞质区近膜处都有一个非常保守的KXGFFKR序列,与整合素活性的调节有关。

1.2 整合素的功能 整合素具有2种主要功能:传递细胞内外之信息;细胞与ECM间的连接桥梁^[2]。整合素调节双向跨膜信号,从细胞内向外的称作

inside-out signalling,从细胞外向内的称作 outside-in signalling。整合素通过各种信号途径把细胞外的信号传入细胞内,再通过激酶链(MAPK/JNK)传入细胞核,调节mRNA的转录和蛋白质的表达。同时细胞外的信号传到细胞骨架蛋白引起细胞变形、移动。信号转导有以下途径:(1)对黏着斑蛋白激酶(focal adhesion kinase, FAK)激活。激活FAK是许多整合素信号系统中的重要部分。FAK磷酸化后对卵巢癌的转移有影响^[3]。(2)对整合素连接蛋白激酶(integrin linked kinase, ILK)的激活。ILK也是一种酪氨酸激酶,是整合素激活激酶链以及引起细胞骨架改变的一条信号转导途径。(3)激活磷脂酶和脂类激酶。细胞与ECM的黏附可刺激胞内磷脂酰肌醇二磷酸的合成。磷脂酰肌醇二磷酸是细胞内一种第二信使,与G蛋白及其他信号途径部分交叉。(4)通过三磷酸鸟苷结合蛋白家族介导信号转导。整合素能够与这些蛋白作用,形成复合物激活小分子通过三磷酸鸟苷结合蛋白,对细胞骨架变形、细胞增殖分化进行调节。(5)调节细胞内离子浓度。整合素与配体结合后可引起细胞内自由 Ca^{2+} 浓度升高。自由 Ca^{2+} 浓度可调节多种酶活性,并能作为第二信使或第三信使激活激酶链。

2 整合素与卵巢癌转移

2.1 卵巢癌转移机制 卵巢癌的转移和其他恶性肿瘤转移的机制一样,是一个复杂的、多步骤的、连续的主动过程,此过程包括以下几个步骤^[4]:(1)肿瘤细胞表面黏附分子减少。正常上皮细胞表面有各种细胞黏附分子,它们之间的互相作用有助于细胞黏附在一起,阻止细胞移动。肿瘤细胞表面黏附分子减少,使细胞彼此分离,而从原发部位脱落,这是肿瘤转移的开始。(2)肿瘤细胞与基膜的黏着增加。正常上皮细胞与基膜的附着是通过上皮细胞基底面的一些附着介导的,如层黏连蛋白受体,肿瘤细胞表达更多的层黏连蛋白受体,并分布于癌细胞表面,是癌细胞与基膜的黏着增加。(3)ECM的降解。

[收稿日期] 2010-04-12

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30770487)

[作者单位] 暨南大学附属第一医院 妇产科 广东 广州 510632

[作者简介] 张小鹏(1986-),女,硕士研究生。

[通讯作者] 王晓玉,硕士研究生导师,教授。

癌细胞产生蛋白酶(如IV型胶原酶),溶解ECM(如IV型胶原),使基膜局部形成缺损,有助于癌细胞通过。(4)肿瘤细胞迁移。肿瘤细胞借助阿米巴样运动通过基膜缺损处移出。肿瘤细胞穿过基膜后,进一步溶解间质结缔组织,在间质中移动,到达血管时又以类似的方式穿过血管的基膜进入血管。进入血管内的恶性肿瘤细胞,并非都能够迁徙至其他器官形成转移灶。单个肿瘤细胞大多数被自然杀伤细胞(NK细胞)消灭,但是与血小板凝集成团的肿瘤细胞,形成不易消灭的肿瘤细胞栓,可与血管内皮细胞黏附,然后穿过血管内皮和基膜,形成新的转移灶。由于血管内皮下的基膜没有足以使瘤细胞自然通过的通道,所以瘤细胞的这一过程只有借助胶原酶及蛋白水解酶的水解作用破坏基膜才能穿出管壁。(5)肿瘤细胞进入血液循环后侵入周围组织在继发部位生长。此外,肿瘤血管的生成也是肿瘤发生转移的一个重要方面。

2.2 整合素与卵巢癌ECM的降解 癌细胞必须突破ECM才能向远处转移。ECM的降解是肿瘤侵袭正常组织和开始转移的重要信号和途径。ECM包括许多蛋白酶,如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)、组织蛋白酶D等。整合素可与MMP结合并正向调控MMP的表达,MMP的高表达可直接破坏和降解ECM,从而为癌细胞的转移做好充分的准备。MMP中以MMP-2和MMP-9的研究最多。有关黑素瘤的体内和体外研究都证实,在具有高侵袭性的细胞活性形式的MMP-2与 $\alpha\beta3$ 整合素的表达存在密切联系,整合素可能通过激活MMP-2由非活性形式向活性形式转化,从而增强细胞的侵袭和转移能力。MMP2高表达的肿瘤细胞在侵袭、转移过程中突破各种屏障的能力较高,具有转移倾向的癌细胞可自身分泌或诱导其他细胞分泌大量的MMP2,破坏基膜的完整性,导致癌细胞向其他部位转移^[5-6]。Rauvala等^[7]研究发现,MMP2在肿瘤的转移中发挥作用。Fishman等^[8]研究也发现,伴有淋巴结转移的卵巢癌其MMP2表达率明显高于无淋巴结转移者。Lin等^[9]对79例卵巢浆液性囊腺癌进行免疫组织化学分析表明,MMP2与卵巢浆液性囊腺癌的临床分期、组织分化密切相关。Kim等^[10]研究也发现,MMP2在卵巢癌的浸润和转移中起着关键性的作用。

整合素可以通过激活FAK信号转导通路,从而介导细胞的黏附和迁移。FAK是细胞质内的一种酪氨酸激酶,在整合素介导的信号转导中具有关键

作用。FAK磷酸化后对肿瘤细胞的增殖和转移有影响。整合素激活FAK介导的信号转导通路与肿瘤的侵袭转移密切相关。Ahmed等^[11]用Western blot检测正常卵巢上皮无整联蛋白连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)表达,而在卵巢癌中ILK高表达,且肿瘤分级越高,ILK表达越高,ILK表达的增加促进卵巢恶性肿瘤的进展。Cruet-Hennequart等^[12]在研究 αv 在卵巢浆液性囊腺癌细胞株、卵巢浆液性囊腺癌细胞株卵巢癌细胞上的表达及对卵巢癌细胞增殖及信号转导机制中发现, αv 整合素通过ILK调节卵巢癌细胞的增殖。于翠珍等^[13]研究表明,在卵巢恶性上皮性肿瘤组织中ILK蛋白的阳性率明显高于良性卵巢肿瘤及正常卵巢组织($P < 0.05$),并且随正常卵巢组织、良性及恶性卵巢上皮性肿瘤进展,ILK的阳性率有明显上升趋势($P < 0.05$),这些结果提示ILK与卵巢肿瘤发生有关。ILK的高表达与肿瘤的分期、分级、淋巴结转移有显著的相关性,表明ILK高表达是卵巢癌进展的中晚期表现,进一步证明ILK与肿瘤浸润能力直接相关。

2.3 整合素与卵巢癌细胞黏附 肿瘤细胞与ECM发生黏附是肿瘤侵袭转移的第一步,黏附作用涉及到细胞之间的黏附、细胞和基膜的黏附等。肿瘤细胞在人体血液循环中主要与白细胞、血小板和内皮细胞黏附,这种黏附是肿瘤转移的重要因素。含 $\beta2$ 亚基的整合素主要存在于各种白细胞表面,它可以与肿瘤细胞表面的其他细胞黏附分子如ICAM结合,有助于召集肿瘤细胞在脉管内聚集及穿出管壁向远隔组织转移。含 $\beta3$ 亚基的整合素主要存在于血小板表面,它参与介导血小板与肿瘤细胞结合,使肿瘤细胞免受吞噬细胞的清除。肿瘤细胞与内皮细胞间的黏附是其穿出脉管的第一步,主要通过肿瘤细胞上的整合素如 $\beta2$ 、 $\alpha4\beta1$ (VLA4)等与内皮细胞结合。整合素还可使肿瘤细胞同质性黏附下降,而使异质性黏附能力增加。一方面,肿瘤细胞从原发灶脱落降低其黏附力;另一方面肿瘤细胞种植到继发部位需增加其黏附力,因此,黏附和去黏附都有可能促进转移,而整合素可调节肿瘤转移的黏附能力。

研究显示,卵巢癌细胞上存在的细胞-细胞、细胞-基质黏附分子可促进卵巢癌细胞与腹膜间皮细胞的相互作用。Muller-Klingspor等^[14]采用免疫组织化学的方法检测76例浆液性卵巢癌患者中癌组织整合素 $\beta1$ 的表达情况,采用多因素COX回归分

析显示,整合素 $\beta 1$ 表达阳性者预后较差。Burleson 等^[15]从 11 例 III ~ IV 期卵巢癌患者腹腔积液中取得癌细胞,在用其进行黏附 ECM 和间皮细胞层的实验中发现,整合素 $\beta 1$ 的单克隆抗体可明显抑制这 2 种黏附的过程。目前认为,在腹膜转移的过程中有微小细胞团的存在,这种细胞团是癌细胞腹腔微小转移中的重要形式。整合素 $\beta 1$ 可以促进这种微小细胞团的形成及其对腹膜的黏附。陈洁等^[16]研究发现,卵巢上皮性肿瘤由良性向恶性转化过程中整合素 $\beta 1$ 的总阳性率及强阳性率均升高;整合素 $\beta 1$ 在临床 I 期及高分化组的总阳性率和强阳性率显著低于 II ~ IV 期及低分化组 ($P < 0.05$);而且侵袭能力较高的 S1 亚系整合素 $\beta 1$ 的表达强度明显高于侵袭能力较低的 S14。说明整合素 $\beta 1$ 的高表达与卵巢肿瘤组织分化程度低、高度黏附和侵袭生长等恶性表型密切相关,并可能对其恶性表型起正性调节作用。通过黏附抑制试验和体外侵袭抑制试验,进一步说明抗整合素 $\beta 1$ 的抗体可明显抑制癌细胞黏附侵袭的过程。整合素 $\beta 1$ 在卵巢癌细胞与 ECM 的黏附过程中是必不可少的,即参与了癌细胞的浸润性生长。

2.4 整合素对肿瘤细胞凋亡的影响 凋亡是细胞的主动死亡过程,凋亡信号启动机制的丧失是肿瘤形成的关键。最初人们对肿瘤的研究主要侧重于对细胞分裂进程的控制,随着分子生物学技术、免疫组织化学等方法的发展应用,整合素在传递特定信号、诱导基因表达,调控细胞存活或凋亡方面所起的作用受到广泛重视。而 ECM 除了调节细胞生长和分化外,还是锚着依赖性细胞的存活因子,例如,在正常人的黑素细胞中,通过整合素依赖调控、锚着性依赖调控,纤黏连蛋白 ($\alpha 5\beta 1$ 的配体)可抑制细胞凋亡。在不加血清含有纤黏连蛋白的培养基中,表达 $\alpha 5\beta 1$ 的黑素瘤细胞仍可存活。 $\alpha \nu \beta 1$ 同样是纤黏连蛋白的受体,与 $\alpha 5\beta 1$ 的黑素瘤细胞在上述情况下却发生凋亡。汤艳等^[17]用 MTT 法测定细胞增殖情况,吖啶橙荧光染色观察细胞凋亡的形态学变化,流式细胞仪分析细胞周期及细胞凋亡,结果发现抗整合素 $\alpha \nu$ 亚基抗体对 HO-8910 细胞有增殖抑制作用,呈时间-剂量依赖性。光镜可观察到细胞凋亡的形态学变化,流式细胞术检测结果分析,实验组 G_1/G_0 期上升, S 期和 G_2/M 期下降,细胞凋亡率上升。说明 $\alpha \nu$ 整合素可抑制卵巢癌 HO-8910 细胞凋亡,促进细胞生存。因此,临床上可通过阻断整合素 $\alpha \nu \beta 6$ 与其配体 FN 的相互作用而促进卵巢癌细胞

凋亡,提高治疗效果,为卵巢癌的临床治疗提供新的途径。

2.5 整合素与肿瘤血管生成 肿瘤的生长、蔓延和转移与血管生成密切相关,血管生成不仅促进原发瘤的生长,而且增加癌细胞入血的机会,促进转移。血管生成在卵巢上皮性肿瘤的生长、局部浸润和播散中起着重要作用,而整合素在此过程中也发挥着主要作用。血管生成依靠生长因子和细胞黏附的协同作用,在体外和体内试验中 $\alpha 1\beta 1$ 、 $\alpha 2\beta 1$ 、 $\alpha \nu \beta 3$ 、 $\alpha \nu \beta 5$ 均影响血管生成^[18]。整合素表达于血管内皮细胞,介导内皮细胞的迁移和毛细血管管腔的形成,其中以 $\alpha \nu \beta 3$ 、 $\alpha \nu \beta 5$ 整合素的作用尤为重要。整合素 $\alpha 1\beta 1$ 、 $\alpha 2\beta 1$ 、 $\alpha \nu \beta 3$ 、 $\alpha \nu \beta 5$ 均影响血管生成,尤以 $\alpha \nu \beta 3$ 、 $\alpha \nu \beta 5$ 的表达在血管中具有较高特异性。 $\alpha \nu \beta 3$ 与卵巢癌的血管生成显著相关,是卵巢癌相关的一种癌蛋白,在卵巢癌的发生、发展中发挥重要作用^[19]。在 IGROV1 细胞和人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) 共同培养的体外模型中, $\alpha \nu \beta 3$ 和 $\alpha 5\beta 1$ 有效参与了 IGROV1 细胞对 HUVEC-ECM 的黏附,这一过程中还有内皮 FN 重组。卵巢肿瘤细胞中表达的 FN 整合素受体和内皮 FN 在卵巢癌新生血管形成及肿瘤-血管系统相互作用的过程中可能具有重要意义^[20]。

综上所述,整合素几乎在卵巢癌转移的每一个环节都发挥了重要的作用。腹腔转移是卵巢癌转移的重要特点,研究整合素在卵巢癌转移中的作用,将有利于研究卵巢癌的腹腔转移过程,也为卵巢癌的治疗提出新的治疗思路和方法。

[参 考 文 献]

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E *et al.* Cancer statistics, 2006 [J]. CA Cancer J Clin, 2006, 56(2): 106-130.
- [2] Galvez BG, Matias-Roman S, Yanez-Mo M *et al.* ECM regulates MT1-MMP localization with $\beta 1$ or $\alpha \nu \beta 3$ integrins at distinct cell compartments modulating its internalization and activity on human endothelial cells [J]. J Cell Biol, 2002, 159(3): 509-521.
- [3] Hsia DA, Mitra SK, Hauck CR *et al.* Differential regulation of cell motility and invasion by FAK [J]. J Cell Biol, 2003, 160(5): 753-767.
- [4] 周侨. 肿瘤[M]//李玉林. 病理学. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 87.
- [5] Kim MD, Seung D, Yoon-La MD *et al.* High expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in serous ovarian carcinomas and the role of this expression in ovarian tumorigenesis [J]. Hum Pathol, 2006, 37(5): 906-911.
- [6] Belotti P, Paganoni L, Manenti A *et al.* Matrix metalloproteinases (MMP9 and MMP2) induce the release of vascular endothelial

growth factor by ovarian carcinoma cells: implications for ascites formation [J]. *Cancer Res* 2003 63(3): 5224-5231.

- [7] Rauvala U, Puistola T, Trpenniemi H *et al.* Gelatinases and their tissue inhibitors in ovarian tumors; TIMP-1 is a predictive as well as a prognostic factor [J]. *Gynecol Oncol* 2005 99(6): 656-662.
- [8] Fishman DA, Liu Y, Ellerbroek SM *et al.* Lysophosphatidic acid promotes matrix metalloproteinase activation and MMP-dependent invasion in ovarian cancer cells [J]. *Cancer Res* 2001 61(4): 3194-3201.
- [9] Lin CK, Chao TK, Yu CP *et al.* The expression of six biomarkers in the four most common ovarian cancers: correlation with clinic pathological parameters [J]. *APMIS* 2009 117(3): 162-175.
- [10] Kim DS, Jeon OH, Lee HD. Integrin $\alpha\beta 3$ -mediated transcriptional regulation of TIMP-1 in a human ovarian cancer cell line [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2008 377(2): 479-483.
- [11] Ahmed N, Riley C, Oliva K, *et al.* Integrin-linked kinase expression increases with ovarian tumour grade and is sustained by peritoneal tumour fluid [J]. *J Pathol* 2003 201(2): 229-237.
- [12] Cruet-Hennequart S, Maubant S, Luis J, *et al.* $\alpha(v)$ integrins regulate cell proliferation through integrin-linked kinase in ovarian cancer cells [J]. *Oncogene* 2003 22(11): 1688-1702.
- [13] 于翠珍, 李双标, 孙德飞. 整合素连接激酶在卵巢肿瘤组织中的表达及意义 [J]. *中国实用妇科与产科杂志* 2007 23(9):

712-715.

- [14] Muller-Klingspor V, Hefler L, Obermair A *et al.* Prognostic value of $\beta 1$ -integrin (= CD29) in serous adenocarcinomas of the ovary [J]. *Anticancer Res* 2001 21(3C): 2185-2188.
- [15] Burleson KM, Casey RC, Skubitz KM *et al.* Ovarian carcinoma ascites spheroids adhere to extracellular matrix components and mesothelial cell monolayers [J]. *Gynecol Oncol* 2004 93(1): 170-181.
- [16] 陈洁, 刘鸣, 汤春生. 整合素 $\beta 1$ 与卵巢癌侵袭性的相关研究 [J]. *中国实用妇科与产科杂志* 2005 21(4): 240-242.
- [17] 汤艳, 张爽. αv 整合素与卵巢癌细胞增殖及凋亡关系的研究 [J]. *辽宁医学院学报* 2007 28(1): 38-40.
- [18] Leong KG, Hu XL, Li L, *et al.* Activated Notch4 inhibits angiogenesis: role of $\beta 1$ -integrin activation [J]. *Mol Cell Biol* 2002 22(8): 2830-2834.
- [19] 杨丽华, 李玛琳, 王凯峰, 等. bFGF、 $\alpha\beta 3$ 和 NF κ B 在 hOEC 中的表达及其与血管生成关系的研究 [J]. *昆明医学院学报*, 2005 26(2): 19-22.
- [20] Carreiras F, Thiébot B, Leroy-Dudal J *et al.* Involvement of $\alpha\beta 3$ integrin and disruption of endothelial fibronectin network during the adhesion of the human ovarian adenocarcinoma cell line IGROV1 on the human umbilical vein cell extracellular matrix [J]. *Int J Cancer* 2002 99(6): 800-808.

(本文编辑 刘璐)

[文章编号] 1000-2200(2011)02-0208-05

· 综述 ·

细胞周期检查点激酶 1 在相关肿瘤中的研究现状

杨洋 综述 郝荣生 审校

[关键词] 肿瘤; 细胞周期检查点激酶; 肿瘤/药物治疗; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 730.2 [文献标识码] A

细胞在生长进化的过程中发展出了一套保证细胞周期中 DNA 复制和染色体分配质量的检查机制, 通常被称为细胞周期检查点。细胞周期检查点调节出现异常时, 则会引起一系列疾病, 尤其是恶性肿瘤的发生。细胞周期检查点主要有 2 个激酶: 细胞周期检查点激酶 1 (Chk1) 和 Chk2, 其中研究较多的是 Chk1。Chk1 是一种蛋白激酶, 是 G₂ 期 DNA 损伤检查点的效应分子, 是细胞周期以及协调 DNA 合成所必不可少的激酶。有研究^[1]显示 Chk1 在调节正常细胞周期的复制时间和进程中起到了关键的作用。尽管越来越多的证据^[2]提示 Chk1 直接在细胞复制中起作用, 但是 Chk1 如何进行调控的机制目前仍

不完全明确。本文就 Chk1 与相关肿瘤的关系及 Chk1 抑制剂的研究现状作一综述。

1 Chk1 的结构及分子生物学特性

1.1 Chk1 的结构 Chk1 是一个含有 200 个氨基酸的复合物, 包含 1 个 N-末端激酶结构域和 1 个 C-末端结构域, 包含作用于 ATM/R 激酶的激活磷酸化位点, 并通过仍然未知的机制激活 ATM/R。在哺乳动物中, Chk1 磷酸化首先发生于羧基端的 Ser-317 和 Ser-345 两个丝氨酸残基上。自体磷酸化、构象变化、Chk1 的亚细胞定位的改变对它的活性起一定作用, 也是其功能所必需^[3]。Peddibhotla 等^[4]在 Chk1 的羧基端发现一种保守的 PCNA 相关蛋白 (PIP), 是 Chk1 有效地应对 DNA 损伤诱导的磷酸化和染色质释放所必需, 并且证明 PIP 在 Chk1 介导

[收稿日期] 2010-06-20

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 肿瘤内科 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 杨洋 (1983-) 男, 硕士研究生。