

ry biliary cirrhosis[J]. Hepatology, 2007, 45(5):1091-1096.

[27] Greenbaum LE. Hedgehog signaling in biliary fibrosis[J]. J Clin Invest, 2008, 118(10):3263-3265.

[28] Kurita S, Mott JL, Almada LL, et al. GLI3-dependent repression of Dr4 mediates hedgehog antagonism of TRAIL-induced apoptosis[J]. Oncogene, 2010, 29(34):4848-4858.

[29] Takeda K, Kojima Y, Ikejima K, et al. Death receptor 5 mediated-apoptosis contributes to cholestatic liver disease[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(31):10895-10900.

[30] Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, et al. mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis[J]. Oncogene, 2007, 26(42):6133-6140.

• 综 述 •

[31] Omenetti A, Yang L, Li YX, et al. Hedgehog-mediated mesenchymal-epithelial interactions modulate hepatic response to bile duct ligation[J]. Lab Invest, 2007, 87(5):499-514.

[32] Syn WK, Agboola KM, Swiderska M, et al. NKT-associated hedgehog and osteopontin drive fibrogenesis in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Gut, 2012, 61(9):1323-1329.

[33] Sicklick JK, Li YX, Jayaraman A, et al. Dysregulation of the hedgehog pathway in human hepatocarcinogenesis[J]. Carcinogenesis, 2006, 27(4):748-757.

(收稿日期:2013-06-21)

维生素 D 抗癌作用机制研究进展*

包安裕 综述, 李 艳[△] 审校

(武汉大学人民医院检验科, 湖北武汉 430060)

关键词: 维生素 D; 肿瘤; 机制

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 23. 040

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)23-3191-03

维生素 D 是与人体健康密切相关的脂溶性维生素, 主要生理功能是维持钙磷平衡, 调节骨代谢。近年来, 维生素 D 预防和治疗肿瘤、改善肿瘤预后的研究受到广泛关注, 成为肿瘤学研究和维生素 D 功能研究的一大热点。本文综述了有关维生素 D 及其代谢物对抗肿瘤的分子机制, 从维生素 D 诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖、调节免疫细胞功能、维生素 D 与肿瘤相互作用等方面详细阐述了维生素 D 抗癌的分子机制, 全面揭示了维生素 D 在抗癌方面的功效及原理, 从而为维生素 D 用于肿瘤预防和治疗提供系统、全面的理论基础。

1 维生素 D 的代谢及功能概述

维生素 D 是一类脂溶性维生素, 与人体健康关系最相关的是维生素 D₂ 和维生素 D₃。人体的维生素 D 主要由人体自身合成和动物性食物中获取。经光照转化和食物吸收的维生素 D 进入血液循环, 与维生素 D 结合蛋白 (DBP) 结合后运送至肝脏, 在肝细胞内被 25-羟化酶 (CYP27A1 编码) 作用后生成 25-羟基维生素 D^[1], 即 25(OH)D, 这是稳定的维生素 D 代谢物, 被用作评价人体的维生素 D 状态。25(OH)D 与 α 球蛋白结合并转移至肾脏后被 1 α -羟化酶 (CYP27B1 编码) 再次羟基化, 形成具有生物活性的 1, 25-二羟维生素 D, 即 1, 25(OH)₂D, 生物活性比 25(OH)D 高 500~1 000 倍, 其结合受体的能力也较高。

1, 25(OH)₂D 发挥生物学功能主要通过与维生素 D 受体 (VDR) 相结合后启动或抑制靶基因的转录。在肿瘤细胞内, 1, 25(OH)₂D 与高亲和力的特异性受体 VDR 结合后, 再与视黄醛 X 受体 (RXR) 形成异源二聚体后, 即可与靶基因上游的维生素 D 反应元件 (VDRE) 结合形成转录调控复合体, 从而激活或抑制下游靶基因的转录、表达, 从而达到抑制肿瘤细胞的作用^[1-2]。

维生素 D 及其代谢物可以通过调控基因转录的途径发挥

抗癌作用, 主要方式是通过基因调控的方式抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤细胞分化; 此外, 维生素 D 及其代谢物对细胞的调节还存在着非基因途径, 即与膜相关蛋白结合, 通过调节电压敏感性钙通道, 引起细胞内游离钙增多, 引起各种各样的生物反应^[3]。

2 维生素 D 调节肿瘤细胞增殖与凋亡的信号通路

大多数研究认为, 维生素 D 发挥抗癌效应的靶细胞是肿瘤细胞或从即将转变为肿瘤细胞的正常细胞。Colston 等^[4]首次发现, 1, 25(OH)₂D 处理的白血病细胞生长受到抑制, 并且生长抑制的程度与 1, 25(OH)₂D 浓度呈剂量依赖效应。类似地, 在结肠癌^[5]、乳腺癌^[6]、前列腺癌^[7]中也发现维生素 1, 25(OH)₂D 具有抑制癌细胞生长的作用。维生素 D 代谢物发挥抑制细胞生长的作用大多数依赖维生素 D 受体 (VDR)。研究发现, 在敲除 VDR 基因的鼠表皮角质形成细胞和 SaOS-2 骨肉瘤细胞中, 1, 25(OH)₂D 不能发挥出抑制肿瘤细胞生长的作用。此外, 在前列腺癌细胞 ALVA-31 中, 使用反义寡核苷酸降低细胞 VDR 表达水平, 能显著弱化 1, 25(OH)₂D 的抑制细胞生长的作用; 相反地, 在几种前列腺癌细胞中过表达 VDR 能显著增强 1, 25(OH)₂D 抑制细胞生长的效果^[8-9]。尽管如此, 维生素 D 代谢物发挥抑制细胞生长的作用并非一定需要依赖 VDR。Costa 等^[10]在 MCF-7 细胞中通过 siRNA 敲除 VDR 基因, 使 VDR 几乎不表达, 但是这种处理未能阻止 1, 25(OH)₂D 抑制 MCF-7 细胞生长的效果, 这说明维生素 D 或其代谢物发挥细胞生长抑制功能还存在着不依赖 VDR 的其他途径。

除了直接抑制肿瘤细胞生长外, 维生素 D 代谢物 1, 25(OH)₂D 还可直接调控控制细胞生长的基因表达。例如, 1, 25(OH)₂D 可以上调编码细胞周期依赖的激酶抑制剂 p21 的基因 CDKN1A1, 从而上调 p21 的表达量达到抑制细胞增殖的效

* 基金项目: 国家临床重点专科建设项目资助 (财社[2010]305)。
[△] 通讯作者, E-mail: yanlitf@gmail.com。

作者简介: 包安裕 (1981~), 男, 主治医师, 主要从事肿瘤分子诊断与个

果^[11]。若通过 siRNA 抑制 *p21* 的基因表达,1,25(OH)₂D 在前列腺癌细胞中的生长抑制效果就不能发挥出来^[12-13]。

除了常规的细胞周期调控子 *p21*、*p27*、*CDK4*、*CDK6* 之外,基因芯片技术的应用让人们发现了新的维生素 D 调控靶基因。例如,在前列腺癌细胞中,1,25(OH)₂D 作用 24 h 后 *CDK1* 基因的 mRNA 表达被抑制^[14];在乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中,1,25(OH)₂D 上调了细胞周期抑制蛋白,如 *RBL2* 和 *RBBP6* 的表达^[15]。

3 维生素 D 抗癌的免疫调节机制

维生素 D 代谢物的免疫调节功能可能是维生素 D 预防癌症的重要机制,全面认识维生素 D 的免疫调节功能有助于帮助设计预防和治疗癌症的新思路、寻找癌症综合治疗的突破点。目前有关维生素 D 调节免疫功能的途径可归纳,如图 1 所示。

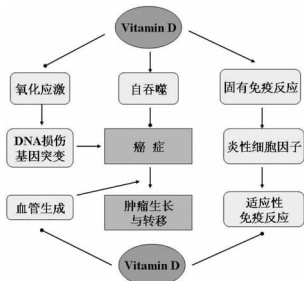


图 1 维生素 D 抑制癌症的免疫调节机制

自吞噬作用是一个受严格调控的细胞内容物降解和再循环的过程,参与了细胞器的代谢和再利用以及对细胞内生物能量的补充。自吞噬可以诱发细胞死亡并抑制细胞生长^[16]。1,25(OH)₂D 可能间接诱导肿瘤细胞的自吞噬。研究者发现维生素 D 类似物 EB1089 诱导 MCF-7S1 细胞的自吞噬,自吞噬基因编码的蛋白 Beclin-1 可以增强 EB1089 的诱导自吞噬作用^[17]。类似地,1,25(OH)₂D 可抑制白血病细胞 HL-60 中的抗自吞噬 mTOR 活性,同时上调蛋白表达水平,综合促进肿瘤细胞的自吞噬^[18]。

氧化应激诱导的 DNA 破坏和 DNA 修复机制的缺陷是促进肿瘤形成的因素之一,机体的抗氧化防御系统能有效降低活性氧成分的生物学功能。1,25(OH)₂D 可以激发诱导抗氧化系统的酶活性来对抗肿瘤形成。在 MCF-7、MCF10AT1 细胞系中,1,25(OH)₂D 或维生素 D 类似物诱导抗氧化酶 TX-NRD1 的表达^[15,19],1,25(OH)₂D 可以诱导主要抗氧化蛋白超氧化物歧化酶 1(SOD1)、SOD2 的表达,从而一定程度上抑制癌症形成。

4 肿瘤进展对维生素 D 代谢和功能的抵抗

VDR 是维生素 D 发挥生物学功能所需的主要介导受体,肿瘤的进展也会对 VDR 的表达产生影响。随着结肠癌分化程度降低,即恶性程度增高,VDR 蛋白水平不断下降。若使用组织病理标本免疫组织化学方法来研究 VDR 变化,可以发现皮肤癌、乳腺癌、卵巢癌的研究中,随着肿瘤的进展,由免疫组化方法所显示的 VDR 水平逐渐降低。

CYP24A1 基因编码 1 α -羟化酶,该酶可使维生素 D 的活性代谢物 25(OH)₂D 转变为活性低的代谢物 24,25(OH)₂D,还可以将活性代谢物 1,25(OH)₂D 转变为活性低的 1,24,25(OH)₂D。在肿瘤组织中发现 CYP24A1 基因的高表达,这可能是肿瘤组织与维生素 D 进行相互对抗作用的具体表现。近来发现 miR125b 可以对 CYP24A1 蛋白水平进行转录后抑制,

miR125b 可结合到 CYP24A1 mRNA 的 3'-UTR 区域,抑制 CYP24A1 的正常功能。

维生素 D 的这种保护作用依赖于几种关键的代谢酶和维生素 D 受体的正常表达和功能的发挥,如图 2 所示。

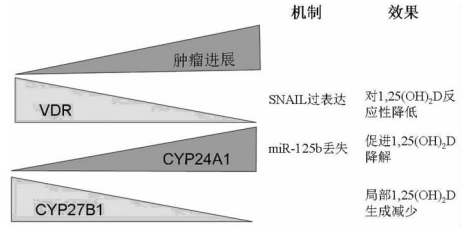


图 2 肿瘤进展对维生素 D 代谢和功能的负调节

CYP27B1 将维生素 D 转变为 25(OH)₂D,若 CYP27B1 的酶活性不能充分发挥出来,维生素 D 就不能发挥后续的抗肿瘤功能。另一方面,CYP24A1 的酶活性增高或 VDR 水平及 VDR 相关信号通路被抑制时,就需要更高水平的 1,25(OH)₂D 产生从而诱发机体的保护功能。

5 维生素 D 预防和治疗肿瘤的展望

大规模流行病学调查已经得到趋于一致的结论,即低维生素 D 状态与高患癌风险具有显著相关性,少量临床试验开始尝试补充维生素 D 或维生素 D 类似物来提高机体维生素 D 水平,以达到预防肿瘤的目的。尽管有些临床试验显现出积极的效果,但是维生素 D 用于预防肿瘤的机制尚不清楚,恰当而安全的剂量还需要更多的实验来探索。在多种不同肿瘤细胞系中开展的细胞学基础研究较为全面地揭示了维生素 D 及其活性代谢物抗癌的具体机制,但是这些具体机制是否能扩展到所有的肿瘤成为较固定的模式,还需要进一步深入的研究。若能利用基因芯片技术探明维生素 D 作用的直接靶基因和间接靶基因,明确维生素 D 抑制肿瘤的调控网络,将有助于设计新的肿瘤治疗药物治疗肿瘤。此外,维生素 D 对免疫系统的调节功能应受到进一步重视,研究维生素 D 在机体免疫调节中的积极作用,有助于为临床预防癌症和改善癌症病人的预后提供坚实的理论基础。结合肿瘤学、分子生物学、药理学和基因工程等各学科的努力,有希望发挥维生素 D 这种潜在抗癌药物对最大功用,或者以此为基础设计出新的维生素 D 类似物作为抗癌新药用于临床治疗,为人类健康造福。

参考文献

[1] Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, et al. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed[J]. J Bone Miner Res, 1998, 13(3): 325-349.

[2] Prüfer K, Racz A, Lin GC, et al. Dimerization with retinoid X receptors promotes nuclear localization and subnuclear targeting of vitamin D receptors[J]. J Biol Chem, 2000, 275(52): 41114-41123.

[3] Fleet JC, DeSmet M, Johnson R, et al. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms[J]. Biochem J, 2012, 441(1): 61-76.

[4] Colston K, Colston MJ, Feldman D. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture[J]. Endocrinology, 1981, 108(3): 1083-1086.

[5] Lointier P, Wargovich MJ, Saez S, et al. The role of vitamin D3 in the proliferation of a human colon cancer cell line in vitro[J]. Anticancer Res, 1987, 7(4B): 817-821.

- [6] Gross M, Kost SB, Ennis B, et al. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on mouse mammary tumor (GR) cells: evidence for receptors, cellular uptake, inhibition of growth and alteration in morphology at physiologic concentrations of hormone[J]. J Bone Miner Res, 1986, 1(5): 457-467.
- [7] Skowronski RJ, Peehl DM, Feldman D. Vitamin D and prostate cancer: 1,25 dihydroxyvitamin D3 receptors and actions in human prostate cancer cell lines[J]. Endocrinology, 1993, 132(5): 1952-1960.
- [8] Zhuang SH, Schwartz GG, Cameron D, et al. Vitamin D receptor content and transcriptional activity do not fully predict antiproliferative effects of vitamin D in human prostate cancer cell lines[J]. Mol Cell Endocrinol, 1997, 126(1): 83-90.
- [9] Wu W, Zhang X, Zanello LP. 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D(3) antiproliferative actions involve vitamin D receptor-mediated activation of MAPK pathways and AP-1/p21(waf1) upregulation in human osteosarcoma[J]. Cancer Lett, 2007, 254(1): 75-86.
- [10] Costa JL, Eijk PP, van de Wiel MA, et al. Anti-proliferative action of vitamin D in MCF7 is still active after siRNA-VDR knock-down[J]. BMC Genomics, 2009, 10: 499-500.
- [11] Liu M, Lee MH, Cohen M, et al. Transcriptional activation of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D3 leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937[J]. Genes Dev, 1996, 10(2): 142-153.
- [12] Moffatt KA, Johannes WU, Hedlund TE, et al. Growth inhibitory effects of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D(3) are mediated by increased levels of p21 in the prostatic carcinoma cell line ALVA-31[J]. Cancer Res, 2001, 61(19): 7122-7129.
- [13] Rao A, Coan A, Welsh JE, et al. Vitamin D receptor and p21/WAF1 are targets of genistein and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in human prostate cancer cells[J]. Cancer Res, 2004, 64(6): 2143-2147.
- [14] Peehl DM, Shinghal R, Nonn L, et al. Molecular activity of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in primary cultures of human prostatic epithelial cells revealed by cDNA microarray analysis[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2004, 92(3): 131-141.
- [15] Swami S, Raghavachari N, Muller UR, et al. Vitamin D growth inhibition of breast cancer cells: gene expression patterns assessed by cDNA microarray[J]. Breast Cancer Res Treat, 2003, 80(1): 49-62.
- [16] Singletary K, Milner JD. Autophagy, and cancer: a review[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2008, 17(7): 1596-1610.
- [17] Hoyer-Hansen M, Bastholm L, Mathiasen IS, et al. Vitamin D analog EB1089 triggers dramatic lysosomal changes and Beclin 1-mediated autophagic cell death[J]. Cell Death Differ, 2005, 12(10): 1297-1309.
- [18] Zou M, Lu N, Hu C, et al. Beclin 1-mediated autophagy in hepatocellular carcinoma cells: implication in anticancer efficiency of oroxylin A via inhibition of mTOR signaling[J]. Cell Signal, 2012, 24(8): 1722-1732.
- [19] Lee HJ, Liu H, Goodman C, et al. Gene expression profiling changes induced by a novel Gemini Vitamin D derivative during the progression of breast cancer[J]. Biochem Pharmacol, 2006, 72(3): 332-343.

(收稿日期: 2013-06-13)

• 综 述 •

吡啶橙荧光染色诊断附红细胞体病研究进展及评价

蔡淑梅¹, 安淑娟¹综述; 金凤玲^{2△} 审核

(兰州大学第一医院: 1. 检验科; 2. 感染管理科, 甘肃兰州 730000)

关键词: 支原体感染; 吡啶橙; 诊断

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 23. 041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)23-3193-03

附红细胞体 (erythrozoön) 是寄生于多种动物和人的红细胞表面、血浆及骨髓中的一种单细胞原生物, 所引起的人畜共患传染病称之为附红细胞体病 (EPE)。已有越来越多的报道说明在中国人群中附红细胞体感染率有逐年递增的趋势, 如文海蓉等^[1]用血涂片镜检的方法检测南昌地区的不同人群 764 人, 结果显示南昌地区人群附红细胞体总感染率为 8. 25%; 和春桐等^[2]用涂片染色及压片法在云南贡山地区附红细胞体感染率为 68. 18%, 感染率以农村 (77. 34%) 高于城市 (30. 29%); 於雪琴等^[3]对青浦区人附红细胞体感染率结果共调查 320 人, 总感染率为 16. 25%; 张敏娟等^[4]对于宁夏居民及门诊患者检测附红细胞体感染率高达 41. 00%。附红细胞体感染对象为免疫力低下的人群和特殊人群 (如猪饲养员、猪肉屠宰和销售人员等)^[5]。王剑飏等^[6]对高原人附红细胞体研究中, 附红细胞体的传播有垂直传播。人感染附红细胞体后, 并不一定出现明显症状, 即有“隐性感染”, 在免疫力低下或者病原体数量超过一定量的时候才会出现症状, 对人类健康造成

严重的危害甚至导致死亡^[1-2, 7]。

人畜共患的 EPE 分布于世界各地, 人感染附红细胞体的临床表现多种多样, 且没有特异的临床症状。由于本病在临床上常与感冒、黑热病、疟疾等疾病的症状相似, 容易混淆; 同时导致红细胞破坏和血浆游离血红蛋白升高^[8]; 人感染附红细胞体时很容易造成误诊、漏诊^[5, 9-12], 故目前临床迫切需要一个特异性强、灵敏度高的实验来诊断该病。

1 附红细胞体的理化性质及病原分离培养

附红细胞体一般在血液和骨髓中寄生, 在血浆中大小不一, 可成单个或者成团存在, 一般直径在 0. 3~1. 0 μm , 最大可达 1. 5 μm , 运动十分活跃, 呈翻滚或扭转运动, 一旦附着在红细胞表面, 就停止运动, 在骨髓中运动远不如在血浆中活跃。

附红细胞体对干燥和化学消毒药物抵抗力较弱, 一般消毒剂几分钟即可杀死, 但在酸性溶液中活性反而会增强; 60 $^{\circ}\text{C}$ 、30 min 即可使附红细胞体失去致病活性。对低温抵抗力较强, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的血液中可存活 1 个月, 不受红细胞溶解的影响, 在