

及时发现并积极进行对症支持治疗,对 AL 化疗效果起到积极作用。止凝血分子标志物能较好地反映体内早期凝血、抗凝及纤溶系统激活的敏感指标,其检测能为早期预防 AL 合并血栓性疾病提供依据,可作为疗效观察的辅助指标,也有助于 AL 病情观察。

参考文献

[1] Chang H, Kuo MC, Shih LY, et al. Clinical bleeding events and laboratory coagulation profiles in acute promyelocytic leukemia[J]. Eur J Haematol, 2012, 88(4): 321-328.

[2] Larsen AM, Leinøe EB, Johansson PI, et al. High syndecan-1 levels in acute myeloid leukemia are associated with bleeding, thrombocytopenia, endothelial cell damage, and leukocytosis[J]. Leuk Res, 2013, 37(7): 777-783.

[3] Franchini M, Frattini F, Crestani S, et al. Bleeding complications in patients with hematologic malignancies[J]. Semin Thromb Hemost, 2013, 39(1): 94-100.

[4] 卢军, 周学中. 急性白血病合并 DIC 的临床与实验室分析[J]. 微循环学杂志, 2007, 17(1): 62-63.

[5] Athale U, Moghrabi A, Nayiager T, et al. von willebrand factor and thrombin activation in children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia: an impact of peripheral blasts[J]. Pediatr Blood Cancer, 2010, 54(7): 963-969.

[6] Ozatli D, Koçoğlu H, Haznedaroğlu IC, et al. Circulating thrombomodulin, thrombospondin, and fibronectin in acute myeloblastic leukemias[J]. Haematologia (Budap), 1999, 29(4): 277-283.

[7] Myers DD, Hawley AE, Farris DM, et al. P-selectin and leukocyte microparticles are associated with venous thrombogenesis[J]. J Vasc Surg, 2003, 38(5): 1075-1089.

• 综 述 •

[8] 任敏, 肖菁, 武加标. 检测血浆 D-二聚体、P-选择素在急性白血病 DIC 诊断中的临床意义[J]. 现代医学, 2009, 37(6): 447-448.

[9] Schneider P, Van Dreden P, Rousseau A, et al. Increased levels of tissue factor activity and procoagulant phospholipids during treatment of children with acute lymphoblastic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2010, 148(4): 582-592.

[10] Choudhry A, Deloughery TG. Bleeding and thrombosis in acute promyelocytic leukemia[J]. Am J Hematol, 2012, 87(6): 596-603.

[11] 褚金龙, 任继新, 邢桂芝. 急性白血病化疗前后血浆 TF、TFPI 的动态变化及其临床意义[J]. 现代预防医学, 2012, 39(9): 2257-2258.

[12] 万楚成, 夏云金, 章正华, 等. 止凝血分子标志物在急性白血病合并 DIC 中的意义. 临床内科杂志[J]. 临床内科杂志, 2007, 24(8): 549-551.

[13] 吴方, 王学锋, 贻斌, 等. 止、凝血分子标志物监测在急性白血病诊治中的意义[J]. 中华血液学杂志, 2001, 22(3): 141-144.

[14] 秦燕春, 张铀, 李江, 等. 急性白血病患者抗凝血酶Ⅲ、蛋白 C、蛋白 S 和 α2-纤溶酶抑制物活性的改变[J]. 陕西医学检验, 2000, 15(4): 3-4.

[15] Sakata Y. Treatment of DIC associated with myelogenous leukemia[J]. Nihon Rinsho, 2009, 67(10): 1978-1983.

[16] 肖芳芳, 胡锴勋, 郭梅, 等. 初诊急性白血病凝血指标异常及其临床意义探讨[J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(2): 300-304.

[17] 刘艳慧, 王兆钺, 张威, 等. 急性白血病纤溶指标改变及其机制的研究[J]. 临床血液学杂志, 2009, 22(2): 127-131.

(收稿日期: 2013-12-14)

血管生成拟态研究分析*

王启广 综述, 谭黎明, 曹友德[△] 审校
(湖南省人民医院检验科, 湖南长沙 410005)

关键词: 血管生成拟态; 血管内皮钙黏蛋白; 综述
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 05. 034

文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2014)05-0586-04

随着血管生成拟态(VM)这一概念的提出,相关的研究和报道逐渐引起关注。VM 在肿瘤的发生、发展及转移、分化过程中起到重要的作用。近来抗肿瘤血管生成成为肿瘤治疗研究的一个热点,但这种治疗是否会导致肿瘤恶性程度增高,也颇具争议。本文旨在探讨目前有关 VM 形成的分子机制及相关功能研究,为 VM 靶向治疗肿瘤开发新药提供重要的参考价值。

1 VM 的发现

VM 是近年来发现的一种不依赖机体血管内皮细胞的全新肿瘤微循环模式,由 PAS 及 IV 型胶原阳性的基质包绕内皮样肿瘤细胞形成的管状网络,其内衬覆的肿瘤细胞可为实体细

胞团块,可形成腔隙,其中可见红细胞,光镜、透射电镜及免疫组化均证实管壁中无内皮细胞存在。VM 的存在与肿瘤的发展及预后相关,基因表达分析证实了形成 VM 的侵袭性黑色素瘤表达了与多种细胞的表型相关的基因,具备相应的多种细胞特点,如上皮细胞、内皮细胞及成纤维细胞等。另有一些与血管发生和生成相关的基因表达上调,如 EphA2、血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)及 laminin5γ2^[1,3]。形成 VM 的肿瘤常表达一些细胞外基质(ECM)成分^[1]。其中 laminin5γ2、MMP-2、MT1-MMP 被证实为 VM 生成所必需,其分布与 VM 的管道网络重叠。ECM 的表达及分布表明侵袭性黑色素瘤细胞可通过改变 ECM 来诱发或促进 VM。

* 基金项目:湖南省科技厅科研计划(2009FJ3124)。 作者简介:王启广,男,副主任技师,主要从事分子生物研究。 [△] 通讯作者, E-mail: youdel20@yahoo. com。

2 VM 的功能联系

VM 是一种不依赖内皮细胞的全新的肿瘤微循环方式,发挥血液灌注的作用。示踪及核磁共振成像显示内皮性血管与 VM 之间存在生理性连接^[4]。多普勒成像示人类黑色素瘤移植物的 VM 管状结构在心脏收缩期有血流通过^[5]。以上提示 VM 可能确实参与肿瘤血供。

研究表明 TF、TFPI-1 和 TFPI-2 在形成 VM 的肿瘤中表达上调^[5]。尽管肿瘤血管内皮细胞表达 TF,但同时亦生成 TFPI-1 发挥重要的抗凝作用,从而避免肿瘤血管中过量纤维素沉积和血栓栓塞形成。高侵袭性肿瘤细胞具备与内皮细胞相似的抗凝机制,进一步辅证了 VM 的灌注作用。在侵袭性越强的葡萄膜黑色素瘤中,其 TF、TFPI-1 和 TFPI-2 的表达量就越高,同时,对 TFPI-1 和 TFPI-2 的染色发现,这两种分子在沿着 VM 网状结构处的分布更为显著^[5]。虽然 TFPI-2 拮抗 TF 的作用很小,但体外 VM 的生成却需要 TFPI-2,因为抗 TFPI-2 抗体(R1552)可抑制 VM 形成,而 TF 和 TFPI-1 不参与 VM 形成。TFPI-2 对 MMP-2 有正性调节作用,但 TFPI-2 为丝氨酸蛋白酶抑制剂,丝氨酸蛋白酶能够活化 MMPs,因而 TFPI-2 对 MMP-2 的调节并不一致,可能视细胞而定。可能 MMP-2 的表达上调较 TFPI-2 更为显著,从而避免 MMP-2 活性抑制。同样,TFPI-2 对 MMP-2 的正性调节也可能为间接作用。

微环境缺氧可激发肿瘤的应激机制。实验发现裸鼠腹腔移植瘤的拟态血管仅存在于卵巢肿瘤组织中心区域,其 HIF-1A 和 VEGF 的表达均明显高于周边肿瘤组织。王璐等^[6]探讨了 HIF-1 α 基因沉默对人食管鳞癌 VM 相关基因表达的影响。研究发现,HIF-1 α 沉默能显著抑制食管鳞癌裸鼠移植瘤生长,并能有效抑制移植瘤 VM 相关基因 EPAH2 和 VE-cadherin 的表达,提示 EPAH2 和 VE-cadherin 可能是 HIF-1 α 参与的 VM 调控机制中重要的下游靶点。另在 VM 附近的血流中也发现 HIF-1 α 的表达,而 CD31+ 的血管中没有 HIF-1 α 表达。虽然 HIF-1 α 并非仅在缺氧时活化,但哌莫硝唑染色显示 VM 附近组织确实处于低氧状态^[7]。以上实验表明缺氧也是 VM 生成的重要诱因。低氧条件下培养可生成 VM 的肿瘤细胞,其 laminin5 γ 2、Tie-1、TFPI-1 及 EphA2 等 VM 标志分子的表达显著增加。

3 VM 机制

3.1 分子机制 VM 形成分子机制的研究尚处于初步阶段,在侵袭性黑色素瘤细胞中表达上调的基因包括与血管生成相关的基因,如 VE-cadherin, EphA2, endoglin, CD34, NRP1, 和细胞外基质成分,如 laminin5 γ 2, MMP-1, 2, 9, 14 (MT1-MMP), 胶原蛋白 I、IV, 纤连蛋白同时显著下调黑色素瘤细胞相关基因^[8]。

VE-cadherin 是钙黏蛋白家族中一种内皮细胞特异性跨膜蛋白,位于细胞间的黏附接合处,在内皮细胞及其前体上均有表达。VE-cadherin 通过其胞浆区促进细胞黏合,传递有关内皮结构的完整性及血管稳定性的细胞内信号。VE-cadherin 的分化是肿瘤组织中的内皮细胞从休眠状态向成血管表型转化的共同行为。实验表明基因敲除 VE-cadherin 后侵袭性黑色素瘤细胞无法形成 PAS 阳性的管道网络,说明 VE-cadherin 对于 VM 管状结构的形成至关重要^[2]。

EphA2 在形成 VM 的侵袭性黑色素瘤中表达上调。E-

phA2 表达量减少会抑制体外实验中 VM 形成^[3,9]。在皮肤黑色素瘤和葡萄膜黑色素瘤细胞(分别为 C8161 和 MUM-2B)中,敲除 VE-cadherin 基因,EphA2 会重新分布到胞浆中且 EphA2 磷酸化的量减少。但 EphA2 缺失或磷酸化减少不影响 VE-cadherin 的表达,说明 VE-cadherin 与 EphA2 在 VM 形成过程中相继发挥作用。EphA2 超表达引起 MMP-2 表达增加,MMP-2 与肿瘤侵袭性有关。与通过 EphA2-siRNA 技术处理的小鼠相比,植入高表达 EphA2 胰腺细胞的小鼠其胰腺癌的肝转移率明显升高^[10-11]。EphA2 诱导 MMP-2 表达进而增强肿瘤侵袭性的这一效应过程依赖或至少部分依赖 FAK,因 EphA2 超表达使 FAK 磷酸化增加^[10]。FAK 在低侵袭性和高侵袭性的黑色素瘤中的表达没有差别,但在高侵袭性肿瘤中 FAK 磷酸化增加因而活性增加,特别是 Tyr397 和 Tyr576 位上的磷酸化使 FAK 充分活化^[12],增强侵袭性促进 VM。减少的 FAK 抑制 VM,活化的 FAK 加强 ERK1/2 的磷酸化,继而增强 MMP-2 和 MT1-MMP 的活性。

laminin5 γ 2 在可形成 VM 的高侵袭性黑色素瘤的胞外基质成分中含量增加。免疫组化染色可显示黑色素瘤细胞体外三维培养物中富含 laminin5 γ 2 的网络。抑制 laminin5 γ 2 会阻碍 VM 形成^[1]。活化的 MMP-2 和 MT1-MMP 使 laminin5 γ 2 裂解为片段 γ 2' 和 γ 2x。 γ 2' 和 γ 2x 与侵袭性和转移有关。抑制这些裂解片段可终止 VM 的形成^[13]。体外实验使用抗 MMP-2 和 MT1-MMP 的抗体可导致 laminin5 γ 2 裂解片段生成减少,而未裂解的 laminin5 γ 2 增多^[2],同时 VM 受抑,说明侵袭性黑色素瘤细胞通过 MMP-2 和 MT1-MMP 改变基质成分,从而在启动和促进 VM 中发挥重要作用。

Hendrix 等^[14]提出一个调控 VM 形成信号通路模型。VE-cadherin 调控 EphA2 的细胞膜移位,EphA2 与固定在细胞膜上的配体作用,发生自身磷酸化。磷酸化的 EphA2 激活 FAK,之后 PI3K 被活化,但 VE-cadherin 与 EphA2 共存也可直接活化 PI3K 而不依赖 FAK。活化的 PI3K 诱导 MT1-MMP 的表达并促其活化,MT1-MMP 再活化 MMP-2^[15]。MMP-2 与 MT1-MMP 共同促进 laminin5 γ 2 裂解为片段 γ 2' 和 γ 2x,微环境中这些片段的增加促进迁移、侵袭甚至最终 VM 的发生。但最先触发这一信号通路的因素仍然未知,推测诱导 VE-cadherin 基因转录的因素可能是关键。参与 VM 形成的一些新分子也不断被发现,如 cAMP、Nodal/Notch、galectin-3。它们的调节机制正在进一步的研究之中。

3.2 肿瘤细胞可塑性机制 VM 与胚胎中不依赖内皮细胞的微循环形成方式具有一定相似性。研究发现高侵袭性黑色素瘤细胞可以表达胚胎性角蛋白,提示侵袭性肿瘤细胞可能发生了向多能胚胎样细胞方向的转化。cDNA 微阵列显示,高侵袭性黑色素瘤组合表达了多种细胞基因,如 keratin8(上皮细胞)、TIE-1(内皮细胞)。因此,形成 VM 可能是可塑性肿瘤细胞所具备的多种潜在功能特性之一。

器官损伤时,定居在组织内的干细胞可以分化为内皮细胞^[16],参与组织修复。肿瘤中可能有类似的情形发生。从人类肾癌组织中分离出的肾癌祖细胞,当培养在肿瘤培养基中,具有分化为内皮细胞的能力^[17]。而接种到小鼠体内后,这些表达干细胞标记分子 CD133 的祖细胞可以形成与宿主血管相连接的功能性血管,促进肿瘤生长。2010 年的两项研究进一步阐述了这一观点^[18-19]。这两项研究发现,构成胶质母细胞

瘤血管的部分内皮细胞来源于肿瘤干细胞样细胞。这些内皮细胞具有与肿瘤细胞相同的基因组变化,并且除了表达特征性内皮细胞标记分子,如 VE-cadherin 和 vWF,同样表达肿瘤的标记分子胶质纤维酸性蛋白(GFAP)。研究者从人类胶质母细胞瘤中分离出 CD133 阳性的未分化肿瘤细胞,体外传代培养,然后种植到小鼠体内,结果在肿瘤的中心生成具有人类内皮标记的血管,并与周围表达小鼠内皮标记分子的血管相连。Scully 等^[20]确认了以上发现,并指出缺氧和 HIF-1 参与了胶质母细胞瘤细胞分化为内皮细胞的过程。综上,VM 可能代表着肿瘤干细胞向内皮系统分化过程中的一种不完全分化状态。

HIF-2 α 可能是重要的诱导肿瘤细胞可塑性的蛋白质^[21],其表达与血管内皮生成和增加的肿瘤恶性程度相关。VE-cadherin 的在内皮细胞中的特异性表达是由转录起始位点上游的 2.5kb 的 DNA 区段(-2486/+24)调控的。该区域含 6 个缺氧反应元件(HRE),为 HIF-1 α 和 HIF-2 α 的结合位点。HIF-2 α 可与 HRE 结合而激活 VE-cadherin 的启动子。可能的,HIF-2 α 通过诱导 VE-cadherin 的转录,促进侵袭性肿瘤细胞的去分化。与 HIF-2 α 诱导去分化的假设相一致的是,HIF-2 α 特异性地调节 Oct-4 基因的转录。Oct-4 是维持干细胞多向分化潜能所必须的一种转录因子。Oct-4 可促进去分化。在 HIF-2 α knock-in 肿瘤中,未分化细胞比例增加,这一效应可通过敲除 Oct-4 基因而逆转。以上预示着 HIF-2 α 在细胞分化中发挥作用,并且提示其表达在侵袭性肿瘤中会有增加,因此,HIF-2 α 成为 VM 研究中一个有趣的候选基因。

4 临床意义

体外三维培养的肿瘤细胞可生成管状网络,并表达内皮细胞表型相关的基因,这些提示抗血管生成药物或许同样能够抑制 VM,但目前获得的关于抗血管生成药物对 VM 作用的数据仍然不一致。

研究表明抗血管生成治疗可能导致肿瘤恶性程度增加。VEGF 受体抑制剂开始时表现出抑制小鼠胰腺癌的效应,致血管退化和肿瘤生长停滞,但又会诱发一种逃避性抵抗反应,致使肿瘤向更高的恶性程度演进,侵袭性增强,转移增加^[22]。用舒尼替尼持续治疗小鼠,5 周后,肿瘤侵袭性增强。舒尼替尼为酪氨酸激酶抑制剂,作用于 VEGFR 和 PDGFR,具有有效的抗血管活性^[22]。这些结果表明抑制 VEGF 信号通路可增加肿瘤的恶性程度。VM 可能不仅仅是肿瘤的一种代偿性灌流方式,也是一种转移途径。为进一步验证这种可能性,需要检测在这些试验中,VM 是否仍会生成甚至有所增加。值得注意的是,尽管在鼠科动物中该疗法可引起抵抗机制和肿瘤发展,但现有的临床研究尚未发现抗血管生成药物可以导致患者的肿瘤恶性程度增加。

抗血管生成拟态药物研发虽还处于初级阶段,但基于其能从另一层面有效抑制肿瘤的发展及血行转移,因此开发这类药物有着可观的前景。VM 靶向治疗策略包括抗 VEGF- α 治疗,下调 VE-钙黏蛋白,敲除 EphA2 基因、应用对抗 MMPs 和 5c2 链的抗体和抗 PI3K 治疗,这对于抗血管生成疗法具有补充意义。

参考文献

[1] Kirmse R, Otto H, Ludwig T. The extracellular matrix remodeled: Interdependency of matrix proteolysis, cell adhesion, and

force sensing[J]. Commun Integr Biol, 2012, 5(1): 71-73.

[2] Chen Y, Chen Y, Huang L, et al. Evaluation of heparanase and matrix metalloproteinase-9 in patients with cutaneous malignant melanoma[J]. J Dermatol, 2012, 39(4): 339-343.

[3] Lu XS, Sun W, Ge CY, et al. Contribution of the PI3K/MMPs/Ln-5 γ 2 and EphA2/FAK/Paxillin signaling pathways to tumor growth and vasculogenic mimicry of gallbladder carcinomas[J]. Int J Oncol, 2013, 42(6): 2103-2115.

[4] Clarijs R, Otte-Höller I, Ruiter DJ, et al. Presence of a fluid-conducting meshwork in xenografted cutaneous and primary human uveal melanoma[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(4): 912-918.

[5] Ruf W, Seftor EA, Petrovan RJ, et al. Differential role of tissue factor pathway inhibitors 1 and 2 in melanoma vasculogenic mimicry[J]. Cancer Res, 2003, 63(17): 5381-5389.

[6] 王璐, 王频, 丁宗勋, 等. HIF-1 α 沉默对食管鳞癌血管生成拟态相关基因影响的体内研究[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2011, 31(3): 314-318.

[7] van der Schaft DW, Hillen F, Pauwels P, et al. Tumor cell plasticity in Ewing sarcoma, an alternative circulatory system stimulated by hypoxia[J]. Cancer Res, 2005, 65(24): 11520-11528.

[8] Bhat P, Jakobiec FA, Folberg R. Comparison of tumor-associated vasculatures in uveal and cutaneous melanomas[J]. Semin Ophthalmol, 2009, 24(3): 166-171.

[9] Yajima I, Kumasaka MY, Tamura H, et al. Functional analysis of GNG2 in human malignant melanoma cells[J]. J Dermatol Sci, 2012, 68(3): 172-178.

[10] Duxbury MS, Ito H, Zinner MJ, et al. Ligation of EphA2 by ephrin a1-Fc inhibits pancreatic adenocarcinoma cellular invasiveness[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 320(4): 1096-1102.

[11] Duxbury MS, Ito H, Zinner MJ, et al. EphA2: a determinant of malignant cellular behavior and a potential therapeutic target in pancreatic adenocarcinoma[J]. Oncogene, 2004, 23(7): 1448-1456.

[12] Girnita A, All-Ericsson C, Economou MA, et al. The insulin-like growth factor-I receptor inhibitor picropodophyllin causes tumor regression and attenuates mechanisms involved in invasion of uveal melanoma cells[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(4): 1383-1391.

[13] Seftor RE, Seftor EA, Kirschmann DA, et al. Targeting the tumor microenvironment with chemically modified tetracyclines: inhibition of laminin 5 gamma2 chain promigratory fragments and vasculogenic mimicry[J]. Cancer Ther, 2002, 1(13): 1173-1179.

[14] Hendrix MJ, Seftor EA, Hess AR, et al. Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: lessons from melanoma[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(6): 411-421.

[15] Lu XS, Sun W, Ge CY, et al. Contribution of the PI3K/MMPs/Ln-5 γ 2 and EphA2/FAK/Paxillin signaling pathways to tumor growth and vasculogenic mimicry of gallbladder carcinomas[J]. Int J Oncol, 2013, 42(6): 2103-2115.

[16] Belicchi M, Pisati F, Lopa R, et al. Human skin-derived stem cells migrate throughout forebrain and differentiate into astrocytes after injection into adult mouse brain[J]. J Neurosci Res, 2004, 77(4): 475-486.

[17] Bruno S, Bussolati B, Grange C, et al. CD133+ renal progenitor cells contribute to tumor angiogenesis[J]. Am J Pathol, 2006, 169(6): 2223-2235.

[18] Ricci-Vitiani L, Pallini R, Biffoni M, et al. Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells[J]. Nature, 2010, 468(7325): 824-828.

[19] Wang R, Chadalavada K, Wilshire J, et al. Glioblastoma stem-like cells give rise to tumour endothelium [J]. Nature, 2010, 468(7325): 829-833.

[20] Scully S, Francescone R, Faibish M, et al. Transdifferentiation of glioblastoma stem-like cells into mural cells drives vasculogenic mimicry in glioblastomas [J]. J Neurosci, 2012, 32(37): 12950-12960.

[21] Paulis YW, Soetekouw PM, Verheul HM, et al. Signalling pathways in vasculogenic mimicry [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1806(1): 18-28.

[22] Páez-Ribes M, Allen E, Hudock J, et al. Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis [J]. Cancer Cell, 2009, 5(3): 220-231.

(收稿日期: 2013-12-04)

• 综 述 •

葡萄糖神经酰胺合成酶在肿瘤多药耐药中的研究进展*

王 倩 综述, 谢 平[△] 审校

(南京医科大学附属无锡人民医院中心实验室, 江苏无锡 214023)

关键词: 葡萄糖神经酰胺合成酶; 抗药性, 多药; 神经酰胺

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 05. 035 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2014)05-0589-03

多药耐药(MDR)是指对基于不同药理学机制的抗肿瘤药物产生的交叉耐药。MDR 广泛存在于肿瘤细胞, 成为临床抗癌治疗的重大难题。研究发现葡萄糖神经酰胺合成酶(GCS)与 MDR 关系紧密, 其在耐药细胞中高表达, 调节促凋亡的神经酰胺(Cer)与抗凋亡葡萄糖神经酰胺(GlcCer)之间的平衡, 影响细胞对抗肿瘤药物的敏感性。

1 GCS 的结构与功能

GCS 几乎见于所有真核生物, 在上百种鞘糖脂的合成中发挥重要作用。人 GCS 基因位于 9q31 染色体, 全长 32 kbp, 包含 9 个外显子和 8 个内含子, 启动子区 TATA 及 CAAT 盒缺失, 含有富含 GC 碱基序列的高度保守 Sp1 结合位点。GCS 一般由 394 个氨基酸组成, 是包含两个 38-kDa 单体的异源二聚体糖蛋白, 同时也是顺式高尔基复合体的跨膜蛋白, 其 N-端为信号锚定区, C-端为酶催化活性域, 位于高尔基复合体胞质面, 抗原决定簇则埋于高尔基复合体内部^[1]。由于 GCS 与高尔基体紧密结合, 成为膜结构的一部分较难分离, 因而限制了 GCS 结构的研究进展^[2]。

GCS 为 Cer D-glucose 转移酶, 催化尿苷二磷酸葡萄糖(UDP-glucose)的糖基转移至 Cer 的伯羟基位形成 GlcCer, 其催化活性受组织 UDP-glucose 水平的调节, 在 UDP-glucose 缺乏的情况下热稳定性较差^[3]。此外睾酮、Cer 也可上调 GCS 表达。

2 GCS 介导肿瘤多药耐药

研究发现, GCS 介导肿瘤多药耐药, 几乎所有耐药株 GCS 表达都呈增高状态^[2]。外源 GCS 基因导入敏感细胞后, 酶产物增加, 细胞获得性耐药, 成功模拟了该耐药机制。如乳腺癌细胞 MCF-7 转染 GCS 基因后, 阿霉素和 Cer 耐药分别增加了 11 和 5 倍, 当再次行 GCS 反义转染时耐药可被完全逆转^[4]。现已发现的 GCS 介导的耐药机制有以下几个方面。

2.1 GCS 通过下调 Cer 抑制肿瘤细胞凋亡 Cer 调控细胞凋亡, 被认为是介导细胞周期阻滞和凋亡重要的第二信使^[5]。

Cer 在实体瘤细胞较之于周围正常组织表达降低, 且患者生存率与 Cer 水平呈正相关^[2]。近年来研究发现多种抗癌疗效亦是上调内源性 Cer 得以实现: 吉西他滨和多柔比星通过上调 Cer 抑制肿瘤生长和恶化从而治疗头颈部上皮癌^[6]。

GCS 最直接的功能是将细胞内的 Cer 糖基化, 为形成高级鞘糖脂脑苷脂和神经节苷脂提供合成前体。GCS 表达增高可明显降低胞内 Cer 水平, 从而抑制细胞凋亡。抑制 GCS 后 Cer 上调, 细胞凋亡增多且使 p53 突变体细胞野生型肿瘤抑制子 p53 功能恢复。GCS 下调内源性 Cer 致细胞凋亡减少在 CHP-100 人成神经细胞瘤中也已得到证实。细胞热休克应激反应是 Cer 上调时细胞的特征性反应, NIH WT-3T3 细胞中的 αB-晶体蛋白——一种热休克蛋白在 GCS 被抑制时表达增高。经证实该晶体蛋白的高表达亦是源于 GCS 抑制后 Cer 水平的增高^[7]。

2.2 GCS 通过增加 GlcCer 诱导肿瘤细胞耐药 鞘糖脂代谢异常导致肿瘤细胞耐药, 胞膜上的鞘糖脂更是帮助肿瘤粘附和侵袭。研究发现: 经 GCS 催化形成 GlcCer 是这类耐药的主要机制^[8]。

Cer 在 GCS 的作用下与 UDP-2-glucose 的糖基结合形成 GlcCer。GlcCer 不仅是膜上重要的脂质成分, 而且参与调控细胞增殖、细胞癌性转化、肿瘤侵袭等。此外, 肿瘤细胞耐药亦与 GlcCer 密切相关。早在 1996 年, 研究人员首次观察到 MCF-7 阿霉素耐药伴随 GlcCer 水平增加。之后, GlcCer 与肿瘤耐药的关系在诸如恶性黑色素瘤、白血病、神经母细胞瘤等多种肿瘤耐药模型中得到证实^[9], 且能通过 cSrc 和 β-catenin 通路上调 MDR1 基因, 诱导耐药亚型的产生^[10]。研究发现耐药株中的 GlcCer 增高, 尤其是在 MCF-7-AdrR 中, 主要与 GCS 酶促活性增强有关, 与 GlcCer 消除减少关系不大。深入研究发现他莫昔芬通过 P-糖蛋白逆转耐药也是由 GCS 抑制、GlcCer 降低介导, 亦证实 GCS 通过上调 GlcCer 诱导肿瘤细胞耐药。

2.3 GCS 通过 MDR1/P-gp 介导肿瘤细胞耐药 GCS 致肿瘤

* 基金项目: 无锡市科技发展指令性计划(CSEY1N1101)。 作者简介: 王倩, 女, 检验技师, 主要从事肿瘤耐药机制的研究。 [△] 通讯作者, E-mail: xieping1115@163.com。