

Midkine 与肿瘤关系的研究进展

黄雅玲综述,侯亚义审校

关键词:MK;基因表达;肿瘤

中图分类号:Q786;R73-3 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2007)02-0161-03

0 前言

Midkine(MK)是1988年Kadomatsu等用差异杂交的方法在视黄酸诱导的小鼠胚胎肿瘤细胞系HM-1细胞cDNA文库中筛选出的一种新基因。它与PTN(多效营养因子,又称肝素结合相关因子)基因结构很相似,共同组成MK家族。二者均由5个外显子和4个内含子组成,其中外显子 1 为非翻译区,外显子 2 编码信号肽和N端几个氨基酸残基,外显子 3 编码核心区域氨基酸残基,外显子 4 编码C端氨基酸残基,只是外显子 2 和内含子大小不等。人的MK基因位于p11.2,该基因上游有视黄酸应答因子的位点、IgG增强子元件、AP-1和NF- κ B结合位点、WT1(Wilm's肿瘤抑制基因产物1)的作用位点(5'-GCGGGGGGCG-3')及固醇类/甲状腺激素受体结合位点,这些位点均与基因的表达调控相关,见图1。

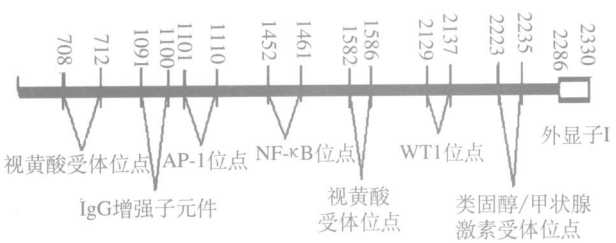


图1 MK基因上游的调控位点和外显子I的示意图

1 MK基因表达与肿瘤的关系

MK高表达于许多肿瘤组织中,Tsutsui等用Northern Blot法发现MK在Wilm's肿瘤、肝细胞癌、胃癌、胰腺癌、结肠癌及食管癌中较相对的癌旁组织均有不同程度的高表达;O'Brien等用核酸酶保护分析法发现,MK在膀胱癌中有高表达;Nakanishi等运用Northern Blot、原位杂交及免疫组化技术研究表明,卵巢癌中MK的表达水平也高;Mi-yashiro等运用RT-PCR、Northern Blot及免疫组化等方法检测到乳腺癌中高表达的MK。随后,在

前列腺癌、肺癌、脑肿瘤、甲状腺乳头状瘤、子宫颈癌^[1]和大量的消化道、消化腺肿瘤中也发现高表达的MK。

近年来对MK表达水平的研究结果表明,MK的表达与肿瘤发展的进程及严重程度密切相关,国外Mishima等用Northern和Western印迹法检测发现MK在高度恶性的星形细胞瘤组织中的表达显著高于低度恶性肿瘤组织;O'Brien等发现在膀胱癌中MK的表达水平与癌的发展有关,尤其在浸润性膀胱癌中,MK的高表达程度与预后不良密切相关。国内殷正丰等^[2,3]应用免疫组织化学染色和Western印迹等方法研究发现原发性肝细胞癌(HCC)的MK表达增加,可能与肝内侵袭、转移和HCC的血行播散有关;此外,Komishi等^[4]的研究还发现,除了在恶性肿瘤中有高频率、高程度的表达外,MK在癌前病变组织中也有高表达。他们对15例潜伏期前列腺肿瘤及正常前列腺组织进行免疫组化分析研究显示,80%的潜伏期肿瘤有MK高度表达,而正常组织不表达或仅微弱表达MK,由此认为检测组织中MK表达水平可用于肿瘤的早期诊断。

肿瘤患者的血液和尿液中也存在MK。2000年Ikematsu等^[5]对10种肿瘤疾病患者血清中MK的含量进行了研究,发现MK在肿瘤患者血清中的含量明显增加,87%的肿瘤患者血清中MK水平高于0.5 ng/ml,而对照血清中仅为0.154 ng/ml,肿瘤切除后,血清中MK的含量明显下降。Shimada等^[6]研究认为,血清中MK含量的增加可作为食管癌的诊断标记。Obata等^[7]报道,胃癌患者血清中MK含量显著提高,而且晚期癌的血清MK含量高于早期癌。Ikematsu等^[8]2003年又报道了,胃癌、直肠癌、肝癌、胆管癌、胰腺癌、脑癌、膀胱癌、肾癌及甲状腺癌等肿瘤患者尿液中的MK含量也显著增高,II期胃癌和直肠癌的阳性率高于I期。由此可见,通过检测血清或尿液中MK的水平进行临床肿瘤诊断和分期是可能的。

2 MK表达产物的定位

关于MK在细胞中的定位目前结论并不一致,

收稿日期:2006-02-21;修回日期:2006-06-16
作者单位:210093 南京大学医学院
作者简介:黄雅玲(1985-),女,硕士,主要从事肿瘤基因表达的研究

有报道认为它们存在于细胞质,也有报道认为存在于细胞核、核仁。罗祥基等应用免疫组织化学与原位杂交的方法研究发现,MK mRNA 及蛋白的阳性信号聚集于 HCC 肿瘤细胞的细胞质,并在 HCC 细胞外组织中的血管密集处 MK 表达尤为明显;目前已发现的细胞表面的 MK 受体包括 syndecan 家族成员、蛋白多糖受体酪氨酸激酶 f (PTP)、一种跨膜的低密度脂蛋白 (LDL) 受体相关的蛋白 (LRP) 以及间变性淋巴瘤激酶 (ALK) 等。2005 年 Dai 等^[9] 通过使用 GFP 作为示踪分子研究发现, MK 特异的定位于 Hep G2 细胞的细胞核和核仁,并通过点突变和缺失突变比较分析成功地确定了 MK 细胞核定位的核心区域为 K79R81、K86K87 和 C 端尾部,对于 MK 核仁定位,C 端最为关键,其次为 N 端尾部、K79R81 和 K86K87。

3 MK 致瘤的分子机制

目前的研究表明 MK 与肿瘤形成相关的分子机制主要有诱发瘤细胞的发生、促纤溶和具有细胞趋化作用、促进肿瘤血管的形成、增强肿瘤细胞的耐药性以及缺失型 MK (tMK) 表达的出现等几种形式。

3.1 瘤细胞的发生 主要包括诱导细胞的转化、抗细胞凋亡和促有丝分裂。首先,MK 可以诱导多种细胞的转化。Kadomatsu 等研究表明 MK 诱导转化的 NIH3T3 细胞具有较高的增殖能力,可在裸鼠中形成肿瘤组织,Stoica 等^[10] 研究表明 MK 转化的 SW-13 细胞能在裸鼠中成瘤,而且揭示 MK 是通过与 ALK (间变性淋巴瘤激酶,PTN 受体) 结合实现的。此外 MK 还可刺激 WF38 人成纤维细胞的 ALK 磷酸化,在表达 ALK 蛋白的 WF38、源于脑微脉管系统和脐血管的人内皮细胞 (HUVEC)、成神经细胞瘤 (SH-SY5Y) 和成胶质细胞瘤 (U87MG) 的细胞内激活 PI3 激酶和 MAP 激酶信号传导通路。其次,一定量的 MK 可保护 G401 细胞系免于顺铂诱导的程序死亡,防止持续光照所致的光受体细胞的变性等。对细胞的保护作用提示 MK 在肿瘤细胞中可能以抗凋亡的形式来促进瘤的生成。Shibata 等^[11] 发现 MK 能被人工培养的小鼠细胞吞噬后进入细胞核内,成为抗细胞凋亡过程中的必需成分。并进一步发现 MK 所调控的细胞抗凋亡机制均与 PI3K 和 MAPK 信号通路相关。在对 G401 细胞系的研究中发现 MK 作为一种自分泌的丝裂原与该细胞表面的 MK 高亲和受体结合,可通过 JAK/STAT 途径调控细胞间蛋白酪氨酸的磷酸化诱导的有丝分裂。此外,Sandra 等^[12] 对 MK

在造釉细胞瘤形成中可能的作用进行了研究,发现 MK 可通过 MAPK 和 Akt 信号通路促进细胞分裂,诱导造釉细胞瘤的发生。

3.2 促纤溶和细胞趋化性 促纤溶和细胞趋化性与肿瘤增殖和转移相关,Kojima 等以牛动脉内皮细胞为材料研究发现,MK 可通过上调尿激酶型纤溶酶激活物及下调纤溶酶原激活物抑制因子-1 的表达等,提高血管内皮中血浆酶原活化因子 (PA)/纤溶酶的水平,增强纤溶作用,并指出起关键作用的是 MK 分子 C 端的 43 个氨基酸多肽。许多研究发现 MK 对中性白细胞、成骨细胞、骨肉瘤细胞、神经细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞等具有趋化作用,并且发现除 N-Syndecan 和 PTP 与此作用相关外,硫酸软骨素尤其是硫酸软骨素 E 在 MK 介导的细胞迁移过程中起至关重要的作用,该作用也与 PI3K 和 MAPK 信号通路相关^[13]。

3.3 促进血管形成 血管的形成与肿瘤增殖和转移相关,Muramaki 等^[14] 将 MK 基因导入到膀胱癌细胞中研究,发现 M 的过量表达可促进血管内皮细胞的生长,从而刺激提高血管的形成活性,最终导致恶性肿瘤的发生。还发现 MCF-7 乳腺癌细胞表达的 MK 可诱导兔角膜强烈的生血管反应。此外,国内也有研究表明,在乳腺癌^[15] 等多种肿瘤中过量表达的 MK 与该肿瘤的血管生成密切相关。

近年来基因治疗方面的研究也从反面证实了 MK 的致瘤性,例如 Takei 等^[16] 的研究发现 MK 的反义寡脱氧核糖核酸能有效地抑制细胞生长及裸鼠结肠癌细胞的生长,并认为 MK 是通过抑制 atelocollagen 所介导的基因转移来实现的,而且 MK 的反义寡脱氧核糖核酸影响肿瘤生长的最重要的两个因素是抑制癌细胞有丝分裂和肿瘤血管生成。

3.4 耐药性的产生 Kang 等^[17] 对具有获得性抗药性的胃肿瘤细胞株中基因的表达进行分析,发现 MK 在所有的耐药细胞株中都是超量表达的,推测 MK 的表达增强了胃肿瘤细胞的抗药性。

3.5 缺失型 MK (tMK) 的表达 tMK 是 1996 年 Miyashiro 等在用 RT-PCR 的方法研究结直肠癌组织中 MK 的表达时发现的。目前研究人类肿瘤组织时发现的 tMK 都是 MK 选择性剪接的变异体,缺失了主要编码 N 端功能区及附近氨基酸的外显子。由于它的 C 端功能区仍存在,因而保留了完整 MK 的大多生物学活性。

研究发现,tMK 只在肿瘤组织中表达且在胃肠癌的转移性淋巴结高频率表达,而不出现在正常组织中,2001 年 Paul 等^[18] 成功的制备了 tMK 的单抗,并通过免疫组化发现 tMK 在 Wilms 瘤细胞也

有特异性的表达,此外,在其他多种肿瘤中都发现有 tMK 特异性的表达。可见, tMK 在肿瘤中表达的特异性可能使它成为肿瘤诊断的新标志和治疗肿瘤的新靶点。而且可以推测:(1) MK 表达的增多只是癌发生的一个基础,而 tMK 是其真正发展成癌的一个关键条件;(2) tMK 是由已发展成癌的组织细胞内代谢紊乱而表达的,是癌自我促进发展的物质。虽然 Nobata 等^[19]的研究提示 MK 基因内含子 3 的第 62 个碱基 G 被 T 替换可能提高结肠癌中 tMK 的表达,但是关于 MK 与 tMK 间的相互作用及它们对肿瘤发生和发展的确切机制仍不清楚。

4 结束语

自 1988 年来,人们对于 MK 的表达与肿瘤关系的已做了大量的研究,然而 MK 在不同性别、年龄和种族的肿瘤患者中表达水平差异的研究仍未开展,因此,若将 MK 作为肿瘤诊断指标和治疗靶点,还需进行大量的临床和基础研究。

参考文献:

- [1] Moon H, Park W, Sung W, et al. Immunohistochemical and quantitative competitive PCR analyses of midkine and pleiotrophin expression in cervical cancer[J]. Elsevier Publisher (Gynecologic Oncology), 2003, 88(3): 289-297.
- [2] 殷正丰,罗祥基,康晓燕,等. 肝细胞癌高表达中期因子蛋白与肝内转移的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 2002, 24(1): 27-29.
- [3] 殷正丰,康晓燕,罗祥基,等. 肝细胞癌高表达中期因子与肝癌细胞血行播散的关系[J]. 中国肿瘤临床, 2004, 31(7): 361-364.
- [4] Konishi N, Nakamura M, Nakaoka S, et al. Immunohistochemical analysis of midkine expression in human prostate carcinoma[J]. Karger Publisher (Oncology), 1999, 57(3): 253-257.
- [5] Ikematsu S, Yano A, Aridome K, et al. Serum midkine levels are increased in patients with various types of carcinomas[J]. American Cancer Society (Br J Cancer), 2000, 83(6): 701-706.
- [6] Shimada H, Nabeya Y, Tagawa M, et al. Preoperative serum midkine concentration is a prognostic marker for esophageal squamous cell carcinoma[J]. Blackwell Synergy (Cancer Sci), 2003, 94(7): 628-632.
- [7] Obata Y, Kikuchi S, Lin Y, et al. Serum midkine concentrations and gastric cancer[J]. Blackwell Synergy (Cancer Sci), 2005, 96(1): 54-56.
- [8] Ikematsu S, Okamoto K, Yoshida Y, et al. High levels of urinary midkine in various cancer patients[J]. Elsevier Publisher (Biochem. Biophys. Res. Commun.), 2003, 306(2): 329-332.
- [9] Dai L, Xu D, Yao X, et al. Conformational determinants of the intracellular localization of midkine, Elsevier Publisher (Biochem. Biophys. Res. Commun.), 2005, 330(1): 310-317.
- [10] Stoica G, Kuo A, Powers C, et al. Midkine Binds to Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) and Acts as a Growth Factor for Different Cell Types[J]. ASBMB (Biological Chemistry), 2002, 277(39): 35990-35998.
- [11] Shibata Y, Muramatsu T, Hirai M, et al. Nuclear targetin by the growth factor midkine, the American Society for Cell Biology (Mol. Cell. Biol.), 2002, 22(19): 6788-6796.
- [12] Sandra F, Harada H, Nakamura N, et al. Midkine induced growth of ameloblastoma through MAPK and Akt pathways[J]. Elsevier Publisher (Oral Oncol.), 2004, 40(3): 274-80.
- [13] Qi M, Ikematsu S, Maeda N, Ichihara Tanaka K, et al. Haptotactic migration induced by Midkine. Involvement of protein tyrosine-phosphatase, mitogen-activated protein kinase, and phosphatidylinositol 3-kinase, ASBMB (J. Biol. Chem.), 2001, 276(19): 15868-15875.
- [14] Muramaki M, Miyake H, Hara I, et al. Introduction of midkine gene into human bladder cancer cells enhances their malignant phenotype but increases their sensitivity to antiangiogenic therapy[J]. American Association for Cancer Research (Clin Cancer Res), 2003, 9(14): 5152-5160.
- [15] 谢平,陆永良,姚行. 中期因子和微血管密度在乳腺癌中的表达[J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21(1): 92-93.
- [16] Takei Y, Kadomatsu K, Matsuo S, et al. Antisense oligodeoxynucleotide targeted to Midkine, a heparin-binding growth factor, suppresses tumorigenicity of mouse rectal carcinoma cells, American Association for Cancer Research (Cancer Res.), 2001, 61(23): 8486-8491.
- [17] Kang HC, Kim U, Park JH, et al. Identification of genes with differential expression in acquired drug-resistant gastric cancer cells using high-density oligonucleotide microarrays[J]. American Association for Cancer Research (Clin Cancer Res.), 2004, 10(1 Pt 1): 272-84.
- [18] Paul S, Mitsumoto T, Asano Y, et al. Detection of truncated midkine in Wilms tumor by a monoclonal antibody against human recombinant truncated midkine [J]. Elsevier Publisher (Cancer Letters.), 2001, 163(2): 245-251.
- [19] Nobata S, Mogi H, Shinozawa T, Exon skipping of midkine pre-mRNA is enhanced by intronic polymorphism in a colon cancer cell line [J]. Elsevier Publisher (Cancer Letters.), 2004, 207(1): 89-93.

[编辑:周永红]