

DOI:10. 3971/j. issn. 1000-8578. 2009. 10. 023

骨肉瘤病因学相关信号途径研究进展

余文熙,郑水儿,沈 赞,姚 阳

关键词:骨肉瘤;病因学;信号转导
中图分类号:R730. 2 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2009)10-0895-03

0 引言

自 Sutherland 提出第二信使概念以来,信号转导通路在肿瘤病因学中的作用不断得到阐明。同样,在骨肉瘤的发病中,信号通路的功能异常也为人们所重视。本文就近年来一些新发现的与骨肉瘤病因学相关的信号通路作一综述。

1 JNK/c-Jun/AP-1 转录因子途径

JNK 是位于胞质的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在相应外界因素刺激下通过自身 T 环上的苏氨酸/酪氨酸残基磷酸化而激活,移位到细胞核与转录因子 c-Jun 的氨基末端区域结合,使其活性区域发生磷酸化。c-Jun 被活化后以同二聚体或异二聚体的形式和许多基因启动子上的 AP-1 和 AP-1 样位点结合,提高 AP-1 的转录活性,促进基因的表达和蛋白质的合成,该通路的表达异常涉及多种肿瘤的发生。Papachristou 等^[1]通过观察 71 例骨肉瘤患者,发现瘤体内 c-Jun、p-JNK 的表达较正常骨组织明显升高,以高恶性者表现更为明显。而 Hsieh^[2]和 Dass^[3]则分别通过骨肉瘤细胞株及动物原位模型证实,抑制 c-Jun 的活性能明显抑制瘤细胞的黏附、侵袭能力及动物模型体内瘤体的生长及发生远处转移的概率。提示该通路中主要成分的过表达影响骨肉瘤的生长与转移,其中 c-Jun 的表达水平可作为今后判断预后的指标,并为相应治疗提供候选靶点。

2 HGF-MET-MAPK/PI3K 途径

原癌基因 c-met 编码一种称为 MET 的蛋白,该蛋白作为肝细胞生长因子/离散因子(HGF/SF)的跨膜受体,具有酪氨酸激酶(PTK)活性,被激活后其膜内的酪氨酸残基位点磷酸化,进一步磷酸化

多种底物蛋白的酪氨酸残基,最终将信号转入细胞核内的转录机构,促进细胞的增殖和分化。之前已有研究报道称在多株骨肉瘤细胞株上检测到了 MET 受体的表达。Coltella^[4]的研究进一步揭示了该通路所涉及的下游分子,即 HGF 和 MET 结合后通过激活 MAPK 进而磷酸化 ERK1/2 上的特定基团,使之激活,移入核内磷酸化特定底物 Elk-1,最终促进瘤细胞的增值。这一效应亦可通过激活 PI3K 激酶进而磷酸化丝氨酸/苏氨酸激酶 PKB/AKT 而实现。Cantiani 等^[5]发现上调窖蛋白-1(Caveolin-1,一种在正常骨组织中表达远较骨肉瘤组织中丰富的整合膜蛋白,相关研究已证实其具有一定肿瘤抑制活性)的表达可抑制 c-met 所介导的信号通路从而抑制瘤细胞的侵袭、成瘤、转移能力。这提示 c-met/MET 有望成为将来骨肉瘤治疗的新靶点。

3 BMPs/SMADs 途径

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)属于 TGF- β 细胞因子超家族,是一类从骨基质中分离提纯并能诱导成骨发生的细胞因子。其主要通过 Smads 或 p38 MAPK 通路传递信号。BMPs 以自分泌或旁分泌形式释放后,自身先形成二聚体并与位于靶细胞上的两种不同的丝氨酸/苏氨酸激酶受体,即 BMPR-I 和 BMPR-II 发生结合。BMPR-II 是结构活性型受体,通过和配体结合发生自身磷酸化而被激活,自身活化的 BMPR-II 磷酸化 BMPR-I 上的丝氨酸/苏氨酸残基从而激活 BMPR-I,最终通过磷酸化丝氨酸/苏氨酸激酶受体激活 R-Smads(受体调节型 Smads)。活化后的 R-Smad 能与 Co-Smad(Smad4)结合,转移至核内并在核内聚集,与大量辅助因子共同作用激活靶基因的转录。

BMPs/Smads 通路的异常则已经证实与骨肉瘤的病因学相关。通过对 24 名患者进行研究,发现瘤体内共表达 BMP-2/4 及 BMPR II 的骨肉瘤患者其发生转移的概率明显高于表达阴性者,预后亦较

收稿日期:2008-05-30;修回日期:2008-08-01
作者单位:200233 上海市交通大学附属上海市第六人民医院肿瘤内科
通信作者:姚阳,E-mail: yangyao_6@hotmail. com
作者简介:余文熙(1983-),男,硕士在读,主要从事骨肉瘤的综合治疗

阴性者差^[6]。相应研究也发现在 60% 的骨肉瘤细胞株胞质内都检测到 BMP-2/4 的表达,其表达水平与瘤细胞去分化的水平相关^[6]。此外研究人员还通过研究鼠 K7M2 骨肉瘤细胞株发现 BMPs 的表达与 VEGF 表达存在正相关,进一步提示了其与骨肉瘤的远处转移可能存在联系^[7]。以上研究提示 BMPs 所介导的信号途径参与了骨肉瘤的发生及转移,进一步揭示其下游分子在病因学中的作用有助于新靶向药物的开发。

4 PTH/PTHrP-PTHr1 途径

甲状旁腺激素相关蛋白/甲状旁腺素(PTH/PTHrP)在骨骼的正常发育中起着关键的作用。PTH 主要由甲状旁腺分泌;而 PTHrP 在许多正常组织如皮肤、骨髓、脑、心血管等都有表达,主要以自分泌或旁分泌的形式起作用。两者空间构象相似,可与同一受体-PTHr1 结合。PTHr1 主要分布在骨骼和肾脏中,属 G 蛋白偶联受体超家族中 B 亚族成员,其与配体结合后,通过与异源三体 G 蛋白发生偶联,通过 PKA 和 PKC 两条信号途径将信号传入下游分子,发挥生物学效应。

Yang 等^[8]报道,通过构建小鼠骨肉瘤肺转移模型,发现转移瘤内 PTHr1 的扩增远高于离体培养($P<0.05$);通过分析 55 名骨肉瘤患者的瘤体样本,也观察到复发灶/转移灶内的 PTHr1 扩增高于原发灶。他们认为骨肉瘤可通过该通路抑制成骨分化以及促进合成细胞外基质基因的表达,为侵袭转移创造条件。实验还发现这一信号转导通路中存在 PTHrP/PTHr1 和 TGF- β 1 的正反馈机制,而 TGF- β 1 的高表达在骨肉瘤中已经证实是预示预后不良的因素。以上研究均揭示 PTHr1 有望成为将来靶向治疗中的新靶点。

5 Wnt 途径

Wnt 基因控制胚胎发育中发挥重要作用,进化上高度保守。其所介导的信号通路是一个繁杂的信号网络,目前认为至少有 3 个分支:经典 Wnt 通路,又叫 Wnt/ β -catenin 通路,Wnt 与细胞膜上对应的两类受体 - Frizzled(Frz)和 LRP5/6 结合,该通路激活后导致细胞质内 β -catenin 的稳定和积累,然后 β -catenin 进入细胞核激活靶基因表达;Wnt/PCP 通路(planar cell polarity pathway),通过小 G 蛋白 Rho 等激活 c-Jun N 端激酶 JNK,调节细胞骨架的不对称分布并参与原肠胚的形成;Wnt/钙离子(Wnt/ Ca^{2+})通路,可能通过 G 蛋白激活 PLC (Phospholipase C)和 PKC (Proteinkinase C)导致细

胞内 Ca^{2+} 释放而影响细胞黏连和基因表达,该通路能拮抗经典的 Wnt 通路。各种 Wnt 配体和受体对不同分支有一定的特异性,但是,同一个配体在不同细胞里又可以激活不同的信号通路分支,这种特异性的控制机制目前尚不清楚。

Hoang 等^[9]报道,在多株骨肉瘤细胞株上检测到了 Wnt 及配体 LRP5 的表达,同时通过研究 44 名骨肉瘤患者,发现 LRP5 的扩增预示着较高的肺转移概率及不良的预后。Guo 等^[10]借助将显性阴性型 LRP(Dominant-negative LRP5)转染入 Saos2 骨肉瘤细胞株以阻断正常 LRP5 的功能,明显削弱了瘤细胞的侵袭能力。Guo 等^[11]采用转染显性阴性型 LRP 的方法,在骨肉瘤细胞株和动物模型上均证实,阻断 Wnt/LRP 通路可以抑制瘤细胞株生成集落、迁移的能力,抑制瘤细胞在动物模型内成瘤的大小、降低远处转移的概率。这一切均提示抑制骨肉瘤 LRP5 的表达有望成为将来靶向治疗的新方向。

6 Ezrin/Akt/mTOR 及 Ezrin/MAPK 途径

骨肉瘤中,ezrin(埃兹蛋白)的高表达和不良预后相关的关系已有诸多文献报道,近来的研究进一步揭示在骨肉瘤患者的瘤组织中,免疫组织化学显示 ezrin 主要定位于细胞膜者,其预后较定位于胞内者为差^[12]。这促使许多研究者进一步探讨 ezrin 在骨肉瘤病因学中的作用。

作为将细胞膜蛋白与肌动蛋白-细胞骨架连接起来的桥接蛋白,ezrin 通过介导膜与细胞骨架的连接,通过将肌动蛋白丝连接到 CD44、ICAM1-3 等细胞黏附分子,膜通道和受体上 在维持细胞正常结构,调控细胞运动和极性,跨膜信号转导等过程中扮演重要角色。

Khanna 等^[13]将 ezrin 蛋白羧基端的 Thr567 置换为丙氨酸,使其丧失传递胞外信号的能力,发现携带这一突变型 ezrin 的骨肉瘤模型小鼠发生肺转移的概率明显下降。同时发现瘤内 AKT 及 ERK1/2 的磷酸化和活性程度降低。在体外实验中,诱导激活 ERK1/2 通路可使表达变异型 ezrin 的瘤细胞部分恢复受抑的迁移黏附能力,而激活 AKT 途径则无法达到这种效果。据此提出 ezrin/MAPK 通路参与了骨肉瘤的转移。Wan 等^[14]观察到使用 Rapamycin 抑制 mTOR 通路可明显抑制骨肉瘤细胞的迁移能力。采用反义转染及 siRNA 法干扰瘤细胞 ezrin 表达,发现瘤细胞迁移能力受抑的同时伴有胞内 AKT/S6K1/4E-BP-1 的磷酸化程度受抑。故 ezrin 的信号途径主要涉及以上两条,但还无法确定

以何者为主。进一步明确 ezrin 的下游通路有助于进一步靶向治疗的研究。

7 CXCL12/CXCR4 途径

趋化因子 SDF-1, 又称 CXCL12/PBSF, 属于趋化因子 CXC 亚家族, CXCR4 则是 SDF-1 唯一受体, 研究表明 SDF-1/CXCR4 生物学轴主要通过激活 MAPK、AKT 信号通路及调节细胞表面黏附分子表达在肿瘤的病因学中发挥重要作用^[15]。

Laverdiere 等^[16]通过研究 47 名骨肉瘤患者资料证实 CXCR4 的高表达预示着骨肉瘤患者的高肺转移率及不良预后。Perissinotto^[17]在多株骨肉瘤细胞株表面均检测到了 CXCR4 的表达, 表达 CXCR4 的瘤细胞在富含 SDF-1 因子的环境下能分泌更多的基质金属蛋白酶-9、易与内皮细胞及骨髓基质细胞发生黏附, 并表现出对 SDF-1 明显的趋化性。进一步的动物模型也证实瘤体高表达 CXCR4 的小鼠发生肺转移的概率远高于不表达者; Oda^[18]报道, 通过对 30 名骨肉瘤患者的观察, CXCR4 在转移灶中的表达高于原发灶, 而且与 VEGF 的表达存在正相关。De 等^[19]通过使用 CXCR4 的抑制剂-T22, 明显抑制了 Saos-2 瘤细胞株的增殖和迁移能力。以上均提示 CXCR4 在骨肉瘤病因学, 尤其是远处转移方面将发挥重要的预测与治疗靶点作用。

8 结语

当前的研究多集中于研究单独的通路, 各通路之间的复杂的交互作用(cross-talk)目前尚不明了。为解决这些问题今后的研究应该关注于以下几个方向: (1) 进一步阐明相关信号途径上下游调控机制; (2) 进一步研究各通路间的交互作用, 以阐明复杂的信号转导网络; (3) 明确是否能通过对某些信号途径进行干预以逆转骨肉瘤细胞的耐药、促进其凋亡、抑制其生长黏附转移能力; (4) 进一步发挥各信号通路之间的协同效应, 以实现联合应用; 将以信号通路为靶点的研究安全有效的应用于临床。

参考文献:

[1] Papachristou DJ, Batistatou A, Sykiotis GP, et al. Activation of the JNK AP-1 signal transduction pathway is associated with pathogenesis and progression of human osteosarcomas [J]. Bone, 2003, 32 (4):364-371.

[2] Hsieh YS, Chu SC, Yang SF, et al. Silibinin suppresses human osteosarcoma MG-63 cell invasion by inhibiting the ERK-dependent c-Jun/AP-1 induction of MMP-2 [J]. Carcinogenesis, 2007, 28(5):977-987.

[3] Dass CR, Friedhuber AM, Khachigian LM, et al. Downregu-

lation of c-Jun results in apoptosis-mediated anti-osteosarcoma activity in an orthotopic model [J]. Cancer Biol Ther, 2008, 7 (7):1033-1036.

[4] Coltella N, Manara MC, Cerisano V, et al. Role of the MET/HGF receptor in proliferation and invasive behavior of osteosarcoma [J]. FASEB J, 2003, 17(9):1162-1164.

[5] Cantiani L, Manara MC, Zucchini C, et al. Caveolin-1 reduces osteosarcoma metastases by inhibiting c-Src activity and Met signaling [J]. Cancer Res, 2007, 67(16):7675-7685.

[6] Yoshikawa H, Nakase T, Myoui A, et al. Bone morphogenetic proteins in bone tumors [J]. J Orthop Sci, 2004, 9(3):334-340.

[7] Weiss KR, Cooper GM, Jadowiec JA, et al. VEGF and BMP expression in mouse osteosarcoma cells [J]. Clin Orthop Relat Res, 2006, 450:111-117.

[8] Yang R, Hoang BH, Kubo T, et al. Over-expression of parathyroid hormone type 1 receptor confers an aggressive phenotype in osteosarcoma [J]. Int J Cancer, 2007, 121(5):943-954.

[9] Hoang BH, Kubo T, Healey JH, et al. Expression of LDL receptor-related protein5(LRP5) as a novel marker for disease progression in high-grade osteosarcoma [J]. Int J Cancer, 2004, 109(1):106-111.

[10] Guo Y, Zi X, Koontz Z, et al. Blocking Wnt/LRP5 signaling by a soluble receptor modulates the epithelial to mesenchymal transition and suppresses met and metalloproteinases in osteosarcoma Saos-2 cells [J]. J Orthop Res, 2007, 25(7):964-971.

[11] Guo Y, Rubin EM, Xie J, et al. Dominant negative LRP5 decreases tumorigenicity and metastasis of osteosarcoma in an animal model [J]. Clin Orthop Relat Res, 2008, 466 (9): 2039-2045.

[12] Ferrari S, Zanella L, Alberghini M, et al. Prognostic significance of immunohistochemical expression of ezrin in non-metastatic high-grade osteosarcoma [J]. Pediatr Blood Cancer, 2008, 50(4):752-756.

[13] Khanna C, Wan X, Bose S, et al. The membrane-cytoskeleton linker ezrin is necessary for osteosarcoma metastasis [J]. Nat Med, 2004, 10(2):182-186.

[14] Wan X, Mendoza A, Khanna C, et al. Rapamycin inhibits ezrin-mediated metastatic behavior in a murine model of osteosarcoma [J]. Cancer Res, 2005, 65(6):2406-2411.

[15] Kucia M, Jankowski K, Reca R, et al. CXCR4 SDF-1 signaling, locomotion, chemotaxis and adhesion [J]. J Mol Histol, 2004, 35(3):233-245.

[16] Laverdiere C, Hoang BH, Yang R, et al. Messenger RNA expression levels of CXCR4 correlate with metastatic behavior and outcome in patients with osteosarcoma [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(7):2561-2567.

[17] Perissinotto E, Cavaloni GI, Leone F, et al. Involvement of chemokine receptor 4/stromal cell-derived factor 1 system during osteosarcoma tumor progression [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(2 Pt 1):490-497.

[18] Oda Y, Yamamoto H, Tamiya S, et al. CXCR4 and VEGF expression in the primary site and the metastatic site of human osteosarcoma: analysis within a group of patients, all of whom developed lung metastasis [J]. Mod Pathol, 2006, 19(5):738-745.

[19] De Nigris F, Rossiello R, Schiano C, et al. Deletion of Yin Yang 1 protein in osteosarcoma cells on cell invasion and CXCR4/angiogenesis and metastasis [J]. Cancer Res, 2008, 68 (6):1797-1808.