

食管癌放射抗拒的细胞信号通路研究进展

张 红¹, 吴清明²

Research Progress of Cell Signaling Pathways of Esophageal Cancer Radioresistance
ZHANG Hong¹, WU Qingming²

1.Wuhan University of Science and Technology,Wuhan 430064, China;2.Tianyou Hospital
Affiliated to Wuhan University of Science and Technology

Corresponding Author:WU Qingming,E-mail:wuhe9224@sina.com



Abstract: Esophageal cancer is a common malignant tumor in China, and radiation therapy is one of the main means. Radioresistance is an important reason for the failure of radiation therapy and tumor local recurrence.All kinds of signaling pathways play an important role in the formation of esophageal cancer radioresistance.In this paper,we summarize the cell signal pathways of esophageal cancer radioresistance. Develop all kinds of effective antagonists of specific signaling pathways targets could provide early interventions to esophageal cancer and other cancers.

Key words:Esophageal cancer;Radioresistance;Cell signal pathway

摘 要: 食管癌是我国常见的恶性肿瘤,放射治疗是其主要的手段之一,而放射抗拒是肿瘤局部复发、放疗失败的重要原因,各种信号通路在食管癌放射抗拒形成中起到重要作用。本文对食管癌的放射抗拒细胞通路进行归纳总结,开发各种信号通路特定靶点的有效拮抗剂,将为食管癌及其他肿瘤的早期干预治疗提供新的思路。

关键词: 食管癌;放射抗拒;细胞信号通路

中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A

0 引言

食管癌是我国常见的恶性肿瘤之一,大多数患者就诊时已属中晚期,放射治疗则成为主要的治疗手段之一。放射抗拒被公认为是食管癌放疗失败的重要原因,如何提高放射治疗的敏感度成为当前放射治疗食管癌的一个亟待解决的问题。研究表明多种信号通路在食管癌放射抗拒形成中起到重要作用,本文总结食管癌细胞株产生放射抗拒的可能存在的细胞通路如下。

1 经典Wnt/ β -catenin通路

Wnt家族是一个高度保守的信号分子家族。Wnt蛋白是一类分泌型糖蛋白,通过与卷曲蛋白(Fr $\bar{z}$)及低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP5/6)结合,将信号转至细胞质内,激活一系列蛋白的活性。 β -catenin是Wnt通路中的重要成员,通常由多蛋白降解复合体(APC、AXIN、GSK-3 β 和酪蛋白激酶)调控,复合体可使 β -catenin磷酸化,而后被泛素-蛋白酶体系统降解,所以一般细胞质内游离 β -catenin极低。当Wnt蛋白与受体Fr $\bar{z}$ 结合,抑制复合体,使

β -catenin不能降解而在胞质内积累继而入细胞核,激活下游信号靶基因c-myc、cyclinD1,通路激活,核内 β -catenin的出现是Wnt信号通路激活的标志。

肖建等^[1]研究发现 β -catenin在食管癌细胞膜表达减弱,向胞质和胞核转位,出现胞质和胞核的异常表达,提示 β -catenin在食管癌的发生发展中起重要作用。Yan等^[2]指出 β -catenin在食管癌细胞中过度表达,主要通过上调STAT3表达,促进食管癌细胞形成,Deorukhkar等^[3]认为STAT3与放射抗拒的形成有关;我们课题组研究表明^[4],随着射线照射剂量增加, β -catenin的含量呈增加趋势,采用配对 t 检验,应用NS-398(COX-2抑制剂)的实验组与对照组比较($t=-3.448$, $P=0.026$)差异有统计学意义,提示实验组应用NS-398增敏后,各照射剂量组 β -catenin的含量均有不同程度的减少提示具有放射抵抗性的细胞中 β -catenin增加,这与李海英等^[5-6]学者认为Wnt通路在食管癌放射抗拒性的获得中有重要作用的研究是一致的。由此我们推断抑制Wnt通路的拮抗剂能增强食管癌放射治疗的敏感度。

2 EGFR信号通路

表皮生长因子受体(epidermal growth factor, EGFR)是一种跨膜酪氨酸激酶受体,由胞外区、跨膜区和胞内区三部分组成,其中胞内区为EGFR-酪氨酸激酶区域,是调节肿瘤细胞增殖、侵袭、转移和凋亡的重要组成部分。EGFR与其配体在胞

收稿日期: 2013-01-16; 修回日期: 2013-03-28
作者单位: 1.430064 武汉, 武汉科技大学医学院;
2.武汉科技大学附属天佑医院
通信作者: 吴清明, E-mail: wuhe9224@sina.com
作者简介: 张红(1981-), 女, 硕士在读, 主要从事食管癌放射增敏研究

外区结合后引起EGFR二聚体化及胞内区磷酸化，进而激活下游一系列重要的信号通路：（1）过PLC-PKC, Ras-Raf-MEK, PI3K-Akt-mTOR和JAK2-STAT3 可能激活PI3K/AKT/mTOR信号通路，同时上调血管内皮生长因子(VEGF)和表皮生长因子(EGF)表达，下调PTEN基因的表达^[7-8]；（2）活化Ras蛋白，启动和激活MAPK信号转导通路的磷酸化级联反应，刺激肿瘤的增殖和转移^[9]。（3）放射诱导细胞EFGR受体进入细胞并参与DNA修复^[8]。这也是使肿瘤细胞产生放射抗拒的原因之一。

研究表明^[10]如果细胞核中缺乏EGFR受体，肿瘤细胞中残存的DNA损伤增加，放射后细胞的生存率降低。大肠癌中有EGFR受体表达的细胞对放疗不敏感，且患者无病生存率明显缩短^[11]，说明EGFR受体表达能抵抗治疗；双重通路抑制剂阿法替尼片能抑制EGFR及HER2信号通路激活，能通过提高放射诱导的DNA损伤及细胞凋亡达到放射增敏作用^[12]。Jing等^[13]进行食管癌研究发现，放疗联合应用EFGR受体拮抗剂西妥昔单抗后，食管癌细胞株KYSE-150R中G₁、G₂/M期细胞比例增加而S期降低，凋亡细胞数明显增加(*P* <0.05)，这表明抑制EGFR通路的表达后，能减弱食管癌细胞株KYSE-150R的放射抗拒性，其机制涉及解除G₂/M期阻滞，改变细胞周期并促进细胞凋亡。由此说明EFGR过度表达能增加食管癌细胞株的放射抗拒性。

3 Hedgehog通路

Hedgehog(HH)蛋白是高度保守的分泌型糖蛋白，由hh基因编码，在哺乳动物中，存在3种同源基因即Sonic HH(SHH)、Indian HH(IHH)及Desert HH(DHH)。SHH在哺乳动物的神经系统、胃肠、乳腺及前列腺等多器官的发育中起重要作用。HH信号转导通路主要通过三种途径激活：（1）shh和受体Ptc结合，解除了Ptc对下游smo的抑制，促使全长的Gli进入核内启动靶基因转录；（2）Ptc发生突变，使下游信号转导调节失控，靶基因不断激活；（3）smo发生突变，导致下游的通路失控，靶基因持续激活。HH在乳腺癌、肺癌、消化道等多种恶性肿瘤中均有高表达，研究发现HH还通过影响细胞核TCF4浓度^[14]、调节MMPs的表达^[15]与Wnt交联，促进肿瘤发生发展。

Mori等学者^[16]研究发现Gli-1在91%食管癌细胞株中阳性表达(31/34)，而Gli-2和Gli-3在所有细胞株中均表达，证实HH增加可诱发食管癌变，促进食管癌的增殖与侵袭。Sims-Mourtada等^[17]报道：在43例有放化疗治疗抗拒的食管癌细胞株中，36例(83.7%) Hh通路激活且Gli-1阳性，2例(4.6%)Hh通路激活而Gli-1阴性，5例(11.7%)Hh通路及Gli-1均阴性，由此说明食管癌的放化疗抗拒与Hh通路

激活有关。但HH通路与食管癌放射抗拒的相关文献较少。目前我们课题组正对HH通路进行研究，拟通过其关键蛋白也是多条通路的交叉点Gli-1深入探究食管癌放射抗拒的机制。

4 NF-κB信号通路

核因子kappa B(nuclear factor -kappa B, NF-κB)是在成熟的B淋巴细胞中发现的，在肿瘤的生长、细胞凋亡等方面起关键作用^[18]。其下游靶基因CyclinD1和c-Myc可刺激细胞的生长和增殖，激活NF-κB能抑制细胞凋亡，引发肿瘤细胞增殖、侵袭、转移、放化疗抵抗^[3]。NF-κB与其抑制物(IkBs)结合以非活性的形式存活于细胞质中，IkBs阻止NF-κB转录进入核内，但它们能被各种游离的分子、激酶、放射线、紫外线等激活促使NF-κB进入核内，在分次照射后，细胞DNA双链断裂，主要通过活化细胞核内NF-κB和ATM来激活NF-κB通路^[3]。

Li等^[19]认为NF-κB活化导致肿瘤的侵袭性生长及放化疗抵抗，主要是通过其效应基因COX-2、cyclin D1、bcl-2家族、survivin引起的；Deorukhkar等^[3]也认为多种肿瘤放射抗拒都与NF-κB有关，抑制NF-κB通路就增加了肿瘤放射敏感度。田芳等^[20]研究表明，NF-κB通路的激活在食管鳞癌的发生中起重要作用。车少敏等^[21]认为使用COX-2抑制剂NS398能抑制食管癌细胞增殖，具有放射增敏的作用，可能与抑制NF-κB活性有关，所以食管癌的放射抗拒与NF-κB密切相关，抑制NF-κB通路能增强放射敏感度。

5 可能参与食管癌放射抗拒的细胞通路：PI3K/Akt通路与Notch通路

磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶(Akt)信号通路为胞内信号转导途径。Bussink等^[22]认为头颈部肿瘤的放射抗拒与PI3K/Akt的激活有关，而俞立萍等^[23]研究发现在头颈鳞癌中，IGF-1R抑制剂能抑制DSBs的修复，阻断PI3K/Akt信号通路，增加放疗引起的细胞凋亡，即增加放疗敏感度。而PI3K/Akt通路又能促进食管癌的发生发展^[24]，那么它与食管癌放射抗拒可能有相关性，可进一步研究。

Notch通路与细胞的分化、增殖、黏附、凋亡及表皮细胞向间充质细胞的转化均密切相关。Notch活化之后所产生的p21(WAF/Cip)可能通过抑制Wnt-4的表达来下调Wnt信号^[25]，还可通过蛋白之间作用和基因转录水平调节NF-κB的表达^[26]。而在食管癌组织中Notch表达率明显低于癌旁组织(*P* <0.05)^[27]，表明Notch通路与食管癌相关。Notch通路与Wnt及NF-κB均密切相关，而后两者已证实与食管癌放射抗拒相关，那么Notch通路与食管癌放

射抗拒相关性如何呢？有待深入研究。

食管癌的放射抗拒机制复杂，细胞通路繁多，而且各个通路相互作用，存在交叉点，选取主要的通路或是关键交叉点进行研究，开发重要通路或关键交叉靶点（如Cyclin D1、COX-2、Gli-1、 β -catenin）的有效拮抗剂，无疑将增强食管癌的放疗效果，提高患者生存率。研究表明Wnt/ β -catenin、Hedgehog、EGFR、NF- κ B通路与食管癌的放射抗拒密切相关，基于此下一步我们课题组准备从HH通路入手深入研究食管癌放射抗拒机制，为食管癌的治疗开辟新的道路。

参考文献:

[1] Xiao J, Shi BY, Wang D, *et al.* Expression and Clinical Significances of β -catenin and wnt-1 in Esophageal Carcinoma[J]. Biao Ji Mian Yi Fen Xi Yu Lin Chuang, 2010, 17(1): 1-4. [肖建, 时宝忆, 王丹, 等. β -catenin和wnt-1在食管癌组织中的表达及其临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2010, 17(1): 1-4.]

[2] Yan S, Zhou C, Zhang W, *et al.* β -catenin/TCF pathway upregulates STAT3 expression in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Lett, 2008, 271 (1): 85-97.

[3] Deorukhkar A, Krishnan S. Targeting inflammatory pathways for tumor radiosensitization[J]. Biochem Pharmacol, 2010, 80 (12): 1904-14.

[4] Wang JL, Wu QM, Li H, *et al.* The research of the cyclooxygenase inhibitor NS-398 inhibits esophageal cancer stem cells to enhance the radiosensitivity[J]. Zhonghua Xiao Hua Za Zhi, 2011, 31(10): 697-8. [王洁莲, 吴清明, 李欢, 等. 环氧合酶抑制剂NS-398抑制食管癌干细胞增强放射敏感性的研究[J]. 中华消化杂志, 2011, 31(10): 697-8.]

[5] Li HY, Zhang L, Pan HL, *et al.* Role of Wnt signaling pathway in development of radioresistance in esophageal cancer [J]. Zhongguo Bing Li Sheng Li Za Zhi, 2012, 28(9): 1623-6. [李海英, 张力, 潘欢乐, 等. Wnt信号通路在食管癌细胞放射抗拒性形成中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(9): 1623-6.]

[6] Li HZ, Gao XS, Xiong W, *et al.* Identification of differentially expressed genes related to radioresistance of human esophageal cancer cells[J]. Chin J Cancer, 2010, 29(10): 882-8.

[7] Ni CC, Yu M, Zhang ZH. The expression and significance of EGFR and PI3K/AKT signaling pathway related proteins in non-small cell lung cancer tissue[J]. An Hui Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2011, 46(12): 1264-6. [倪琛琛, 于敏, 张志红. EGFR与PI3K / AKT信号通路相关蛋白在非小细胞肺癌组织中的表达及其意义[J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(12): 1264-6.]

[8] Han W, Lo HW. Landscape of EGFR signaling network in human cancers: Biology and therapeutic response in relation to receptor subcellular locations[J]. Cancer Letters, 2012, 318 (2): 124-34.

[9] Wang XY, Shen SR, Liu F, *et al.* The study of NGX6 inhibit EGFR/K-ras/ JNK/c-Jun /cyclin D1 signaling pathways in colon cancer[J]. Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Jin Zhan, 2008, 35 (5): 570-6. [王晓艳, 沈守荣, 刘芬, 等. 结肠癌中NGX6抑制EGFR/K-ras/JNK/c-Jun /cyclin D1信号通路的研究[J]. 生物化学与生物物理进展, 2008, 35 (5): 570-6.]

[10] Dittmann K, Mayer C, Fehrenbacher B, *et al.* Nuclear EGFR shuttling induced by ionizing radiation is regulated by phosphorylation at residue Thr654 [J]. FEBS Lett, 2010, 584 (18): 3878-84.

[11] Giralta J, de las Heras M, Cerezo L, *et al.* The expression of epidermal growth factor receptor results in a worse prognosis for patients with rectal cancer treated with preoperative radiotherapy: a multicenter, retrospective analysis[J]. Radiother Oncol, 2005, 74 (2): 101-8.

[12] Tsai YC, Yeh CH, Tzen KY, *et al.* Targeting epidermal growth factor receptor/human epidermal growth factor receptor 2 signalling pathway by a dual receptor tyrosine kinase inhibitor afatinib for

radiosensitisation in murine bladder carcinoma[J]. Eur J Cancer, 2013, 49(6): 1458-66.

[13] Jing Z, Gong L, Xie CY, *et al.* Reverse resistance to radiation in KYSE-150R esophageal carcinoma cell after epidermal growth factor receptor signal pathway inhibition by cetuximab[J]. Radiother Oncol, 2009, 93 (3): 468-73.

[14] Zhou Y, Li ZS, Wang D. Advances of Wnt/ β -catenin signaling pathway and Dickkopf-1 in pancreatic carcinoma[J]. Wei Chang Bing Xue, 2010, 15(12): 752-4. [周颖, 李兆申, 王东. Wnt / β -catenin信号通路和Dickkopf-1在胰腺癌中的研究进展[J]. 胃肠病学, 2010, 15(12): 752-4.]

[15] Ouyang XB, Hao YQ, Wang L. Investigation into the effect and mechanism of Hedgehog signaling pathway on invasion and migration of human gastric cancer cell line SGC-7901[J]. Chongqing Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2011, 36(2): 159-62. [欧阳小波, 郝亚琴, 王立. Hedgehog信号通路对人胃癌SGC-7901细胞侵袭迁移作用及机制探讨[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(2): 159-62.]

[16] Mori Y, Okumura T, Tsunoda S, *et al.* Gli-1 expression is associated with lymph node metastasis and tumor progression in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Oncology, 2006, 70 (5): 378-89.

[17] Sims-Mourtada J, Izzo JG, Apisarnthanarax S, *et al.* Hedgehog: an attribute to tumor regrowth after chemoradiotherapy and a target to improve radiation response[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12 (21): 6565-72.

[18] Xia YH, Liu D, Zhang CF, *et al.* Effect of blockade of NF- κ B signaling pathway on cell apoptosis in cutaneous squamous cell carcinoma[J]. Beijing Da Xue Xue Bao (Yi Xue Ban), 2011, 43(2): 179-82. [夏永华, 刘冬, 张彩凤, 等. NF- κ B信号通路的阻断对皮肤鳞癌SCL-1细胞凋亡的影响[J]. 北京大学学报(医学版), 2011, 43(2): 179-82.]

[19] Li F, Sethi G. Targeting transcription factor NF- κ B to overcome chemoresistance and radioresistance in cancer therapy[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1805 (2): 167-80.

[20] Tian F, Xu PR, Hou WH, *et al.* The activation of NF- κ B signaling transduction pathway in esophageal squamous cell carcinoma cell lines[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2006, 33(1): 11-4. [田芳, 许培荣, 侯卫红, 等. NF- κ B信号通路在食管鳞癌细胞系中的激活[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(1): 11-4.]

[21] Che SM, Zhang XZ, Chen X, *et al.* Radiosensitization effect of cyclooxygenase-2 inhibitor NS398 on radioresistant esophageal cancer cell xenografts in nude mice[J]. Xi'an Jiao Tong Da Xue Xue Bao (Yi Xue Ban), 2012, 33(1): 71-4. [车少敏, 张晓智, 陈鑫, 等. NS398对放射抗拒食管癌裸鼠移植瘤的放射增敏作用[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2012, 33(1): 71-4.]

[22] Bussink J, van der Kogel AJ, Kaanders JH. Activation of the PI3-K/AKT pathway and implications for radioresistance mechanisms in head and neck cancer[J]. Lancet Oncol, 2008, 9 (3): 288-96.

[23] Yu LP, Li P, Zhang Q, *et al.* Radiosensitization of IGF-1R inhibitor AG1024 on head and neck squamous FaDu cells[J]. Zhongguo Ai Zheng Za Zhi, 2012, 22(7): 494-9. [俞立萍, 李萍, 章青, 等. IGF-1R抑制剂AG1024对头颈鳞癌FaDu细胞放射敏感性的影响[J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(7): 494-9.]

[24] Yu C, Chen K, Zheng H, *et al.* Overexpression of astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) is associated with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) progression and pathogenesis[J]. Carcinogenesis, 2009, 30 (5): 894-901.

[25] Pang BX, Jing XM. Crosstalk between Wnt and Notch signaling pathways and their relationships with oral squamous cell carcinoma[J]. Guo Ji Kou Qiang Yi Xue Za Zhi, 2009, 36(3): 341-3. [庞宝兴, 金晓明. Wnt和Notch信号通路及其与口腔鳞状细胞癌的关系[J]. 国际口腔医学杂志, 2009, 36(3): 341-3.]

[26] Zhang N, Fu XG, Sun ZZ. A research progress of the relationship between Notch signaling pathway and breast cancer[J]. Lin Chuang Yu Shi Yan Bing Li Xue Za Zhi, 2009, 25(6): 660-3. [张娜, 付欣鸽, 孙振柱. Notch信号通路及与乳腺癌发生关系的研究进展[J]. 临床与实验病理学杂志, 2009, 25(6): 660-3.]

[27] Zhao WP, Lu P, Miao ZH, *et al.* The expression of Notch1 signal on esophageal carcinoma[J]. Lin Chuang Nei Ke Za Zhi, 2010, 27(4): 278-80. [赵文鹏, 路平, 苗战会, 等. Notch1信号在食管癌中的表达[J]. 临床内科杂志, 2010, 27(4): 278-80.]