文章编号:1000-5404(2005)18-1891-03

综述

Syndecan-1 在多发性骨髓瘤发病中作用的研究进展

Biological function of cell surface proteoglycan syndecan-1 in multiple myeloma

张 超 综述,陈晓红 审校 (第三军医大学基础医学部药理学教研室,重庆 400038)

Syndecan-1 是细胞膜表面的硫酸肝素蛋白聚糖家族中的成员,它在细胞的生长,发育,迁移以及其它生物学行为中起着重要的调控作用。随着对其研究的逐步深入,人们发现 Syndecan-1 在机体的损伤修复及肿瘤的生长、迁移(migration)中都起了关键作用,现对 Syndecan-1 在肿瘤尤其是多发性骨髓瘤中的调控作用研究进展综述如下。

1 Syndecans 与 Syndecan-1

Syndecans 是细胞表面的一类硫酸肝素蛋白聚糖(heparan sulfate proteoglycans, HSPGs),由一条无分支的糖胺聚糖(glycosaminoglycan, GAG)链与核心蛋白以共价链连接而成,其 GAG 多为硫酸肝素(heparin sulphate, HS)型,核心蛋白多为单链Ⅰ型跨膜蛋白,由胞外的 N-末端功能区,疏水的跨膜区以及胞浆内的 C-末端构成,其跨膜区与胞内区结构均高度保守,胞内区含有两个保守区 C1 和 C2,其中间有 1 个可变区 V 区。胞外区除含有 HS 连结位点及 1 个酶切位点外,不同的 Syndecans 含有不同的结构,并且人们根据胞外区的不同将 Syndecans 分为 Syndecan-1,Syndecan-2,Syndecan-3,Syndecan-4 4 种类型。不同类型的 Syndecans 其基因分别位于不同的染色体上,并且各有其表达的组织特异性。Syndecan-1 主要在上皮细胞表达,Syndecan-2 主要表达在成纤维细胞上,Syndecan-3 主要表达于神经细胞上,而 Syndecan-4 则在体内大多数组织中表达。在 Syndecans 上与核心蛋白连接的 HS 最初是非硫酸化的多聚体,在特定氨基酸序列特异性 ser-Gly 残基上开始合成 HS 链,在合成过程中要受到多种生物酶如 N-磺酰转移酶,糖醛酰 C5-表位异构酶等修饰。在酶的修饰作用下其最终可形成多种长短不等、序列多样的 HS 链[1],也正是这种特殊的结构使得 HS 链能与多种配体相结合(如生长因子、胶原纤连蛋白以及多种酶及酶抑制物等)。Syndecans 因而发挥了其调节生长因子活性,参与细胞与细胞,细胞与细胞基质间的粘附,进而影响着细胞的生长,增殖、分化、粘附和迁移等生物学行为。

Syndecan-1 是 Syndecans 家族中研究比较多的一类,其分子量为(85~92)×10^3,基因位于 2 号染色体上,具有 5 个外显子,第 1 外显子编码 5′-非翻译区和信号肽,第 2 外显子编码 GAG 连接处的核心蛋白区,第 3 外显子编码胞外区的非结合部分,第 4 外显子编码 GAG 连接处的近膜区和跨膜区序列,第 5 外显子编码跨膜区,胞内区和 3′-非翻译区的剩余部分[2]。Syndecan-1 在膜表面的表达要随细胞的不同以及功能状态不同而改变。Syndecan-1 在鳞状上皮细胞中分布于整个细胞表面,而在立方上皮和柱状上皮细胞上则仅分布于基侧表面。随细胞功能状态改变,膜表面的 Syndecan-1 也可从胞膜脱落形成可溶型 Syndecan-1 分子,这种脱落型式由一种未知特性的蛋白水解酶介导,通过溶酶体的内溶和降解作用完成的。Holen 发现作为蛋白激酶 C 活化剂的(12-)十四酸佛波酯(-13-)乙酸盐(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)可刺激多发性骨髓瘤细胞,使 Syndecan-1 从细胞表面脱落并且有相应的可溶型 Syndecan-1 产生,而金属蛋白酶抑制因子 BB-94 则可抑制由 PMA 刺激而产生的 Syndecan-1 的脱落[3]。脱落后的 Syndecan-1 分子为结合着 GAG 的整个膜外区,因此其同样具有与多种配体结合的能力。

2 Syndecan-1 在人多发性骨髓瘤中的生物学作用

2.1 多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)

人多发性骨髓瘤是一种以骨髓恶性 B 细胞增生并伴有相关骨破坏的疾病。在病人血液及尿液中可出现过量的单克隆免疫球蛋白。因骨髓浸润可导致骨髓衰竭并可伴发贫血及肾功能不全等并发症。MM 是一种进展性、致死性的疾病,到目前为止常用的治疗方法往往只能起到短暂的缓解作用,尚无法将其治愈。

2.2 跨膜型 Syndecan-1 在 MM 中的生物学作用

跨膜型 Syndecan-1 可表达在骨髓瘤、卵巢癌、乳腺癌、肝癌、何杰金氏病及与某些 HIV 有关的淋巴瘤等多种来源的肿瘤细胞表面。当正常细胞恶变后,细胞膜表面 Syndecan-1 分子的表达常发生改变,并且与肿瘤的恶性程度、预后有一定相关性。在 MM 患者的骨髓中 Syndecan-1 在瘤细胞表面表达,并且在外周血恶性浆细胞表面也有表达。李新燕等[4]发现在 XG-1,XG-6,XG-7,RPI8226,V266 等骨髓瘤细胞株皆表达 Syndecan-1,在 XG-6 细胞株表面其表达密度最高,其密度在培养过程中一直处于平衡状态,而在正常人造血祖细胞及非骨髓瘤细胞株 K562 等细胞表面均未发现 Syndecan-1。在一些瘤细胞上 Syndecan-1 分子只位于细胞表面特定的突起部位,而其它部位均为阴性表达。一部分骨髓瘤细胞如初级骨髓瘤细胞为极性细胞,细胞表面突出的特定部位形成伪足,在极化的细胞表面 Syndecan-1 只位于伪足上,而在非极化细胞上 Syndecan-1 分布于整个细胞表面[5]。在骨髓瘤细胞中大部分为极化细胞,均具有很强的迁移能力,并且在骨髓瘤细胞的相互粘附聚集时其伪

作者简介:张 超(1980-),男,天津市人,第三军医大学 99 级七年制学员,主要从事骨科外科学方面的研究。电话:(023)68774908,E-mail:tmmuzc@163.com

收稿日期:2005-02-15;修回日期:2005-07-11

足指向聚集中心，因此可推测跨膜型 Syndecan-1 与瘤细胞的迁移有十分密切的关系。跨膜型 Syndecan-1 协带着大量强阳离子，当其与多种生物因子相互作用时，可保护这些配体免遭酶降解或使其停留于基质中并以共受体方式通过桥接或变构方式促进配体与受体结合，同时可影响配体的多聚化和稳定。在与配体相互作用过程中，针对 Syndecan-1 核心蛋白的抗体可诱导 Syndecan-1 在细胞表面簇集，促进 Syndecan-1 与微丝共分布并引起肌动蛋白微丝重组，这些需要 Syndecan-1 胞浆区的作用。因为当缺乏 C 末端最后 31 个氨基酸残基或去除最后 23 个氨基酸残基且 V 区 Y 突变为 F 时，Syndecan-1 以上的特性便会消失，说明微丝与 Syndecan-1 的 V 区关联。Syndecan-1 还参与已分化上皮细胞形态和肌动蛋白微丝的维持。转化表型的 S115 小鼠乳腺上皮细胞再表达 Syndecan-1 时，恢复了上皮细胞形态和肌动蛋白组成，限制了肿瘤生长。不仅全长 Syndecan-1 具有这些效应，缺乏胞浆区的 Syndecan-1 也具有此效应[7]。因此，Syndecan-1 胞浆区能直接或间接介导与微丝的相互作用和微丝重组。但在其它一些情况下，不含胞浆区的 Syndecan-1 也影响微丝系统，此分子机制尚不清楚。

Syndecan-1 能与多种配体结合，其生物学功能，如调节生长因子，参与细胞与细胞以及细胞与细胞外基质间的粘附，以及控制瘤细胞的生长、增殖、迁移等。肝细胞生长因子（hepatocyte growth factor, HGF）是一种多向性的细胞因子，能在多种细胞上表达，能促进组织损伤修复及对肿瘤扩散和远处转移起着十分重要的作用，对某些癌和肉瘤细胞系，高浓度 HGF 有抑制其生长或细胞毒作用，并且能通过调整肿瘤基质而调控新的血管床生成。人 MM 细胞株和新鲜细胞同时表达 HGF 和它的受体 C-met，MM 患者 HGF 水平明显升高，并且与 MM 的预后呈正相关。Derksen 等[6]实验结果表明 HGF 在 MM 细胞的存活和增殖过程中是一个非常重要的刺激因子，它能与 Syndecan-1 很强地结合进而可强化 HGF 的调控作用，促进酪氨酸激酶受体的聚集进而激活在瘤细胞生存和增殖调控中起重要作用的磷脂酰肌醇(-3)激酶/蛋白激酶 B 和 RAS/丝裂素激活蛋白。其机制在于 Syndecan-1 在与 HGF 结合后以功能性共受体方式将其提呈给 HGF 的同源配体，强化 HGF 的调控作用，继而抑制瘤细胞的分裂和迁移，这也是 Syndecan-1 与大多数细胞因子作用的方式。

人精子蛋白 17（sperm protein17, SP17）是一段长为 17.5 kb 的蛋白，在 MM 细胞上也可表达，在对其开放读码框序列分析中发现其中并没有跨膜序列和信号肽序列，但 SP17 能与硫化葡聚糖和硫酸乙酰肝素等结合，并且当将其转染 COS 细胞时其能在细胞表面表达，其 C 末端可与钙调蛋白结合调控其活性。SP17 在精子顶体帽上呈高表达，与卵母细胞透明带上的糖化物结合即可促进受精过程，其在细胞与细胞以及与基质的相互黏附中起着很重要的作用。在 MM 中，用高特异性的抗 SP17 抗体标记呈阳性，且 SP17 在 MM 细胞系以及其它 B 或 T 淋巴系肿瘤和正常血液循环中的淋巴细胞上均有表达，而 SP17 在以前一直被认为只是在睾丸中表达[7]。SP17 可与 Syndecan-1 在细胞表面相结合并且这种相互作用又促进了骨髓瘤细胞间的相互粘附作用，提示 Syndecan-1 与 SP17 的这种连接可能参与了正常及恶性淋巴细胞的粘附及迁移。Viklund 等[8]将切去顶端而具有葡糖胺聚糖附着和抗体识别位点的 Syndecans-1 膜外功能区片段导入 S115 小鼠的乳腺癌细胞表面发现其可抑制瘤细胞的增殖，其机制包括抑制了 RAS/ERK（细胞外信号调节激酶）的作用以及增加细胞间粘附而抑制转移等。因此，当 Syndecan-1 正常或高表达时，通过与多种配体结合增强了细胞与细胞以及与基质间的粘附，使细胞间连接紧密，肿瘤不易发生浸润和迁移，并能抑制肿瘤细胞的增殖。

2.3 可溶型 Syndecan-1 的在 MM 中的生物学作用

可溶型 Syndecan-1 分子的形成要受到凝血酶，血纤维蛋白溶酶，金属蛋白酶等的调控，通过酶的活化和直接切割作用使跨膜 Syndecan-1 从膜表面脱落而形成。可溶型 Syndecan-1 具有多种与跨膜 Syndecan-1 相同的结合位点，因而其可以共受体方式与配体结合，从而竞争性抑制了配体与跨膜 Syndecan-1 的结合，在瘤细胞的生长以及细胞间和细胞与其质间的粘附过程中起到负性调节作用[9]。

可溶型 Syndecan-1 的高表达常常预示着预后不良。Seidel 等[10]发现在 MM 膜上跨膜 Syndecan-1 与 HGF 是呈复合物形式相互作用的。当用提纯的可溶型 Syndecan-1 对细胞进行冲洗后，在冲洗液中就可检测到大量 HGF。用高灵敏性 HGF 生物鉴定法观察来自 U_{-266} 骨髓瘤系的不同浓度可溶型 Syndecan-1 与 HGF 间的相互作用，高浓度可溶型 Syndecan-1 可使 HGF 功能减弱，反之则功能增强，而其与跨膜 Syndecan-1 间的置换机制尚不清楚。

Bayer 等[11]发现当跨膜 Syndecan-1 大量脱落后有利于瘤细胞的增殖和迁移，采用流式细胞分析仪技术对 MM 患者的骨髓活检样品分析时发现脱落的 Syndecan-1 表达不同质并且大量聚集于间质网状纤维化区，可在患者行化疗后促进瘤细胞的再增殖。可溶型 Syndecan-1 可容易地在血浆中检测到，并且其浓度高低可反映肿瘤的恶性程度及转移能力情况，因而其有可能成为临床上一种估计多种肿瘤预后的一项重要指标。Seidel 等[12]通过对大量患者的研究发现以可溶型 Syndecan-1 作为一种新的指标其准确度要高于其它经典估测 MM 预后的指标。

3 展望

Syndecan-1 无疑在机体的生理及病理过程中起着重要的调节作用。跨膜型与可溶型 Syndecan-1 均有着各自的功能并且二者以竞争性结合配体的方式调控着肿瘤正反两方向发展，而且其在多种肿瘤中同样都起着重要作用，将有望成为一种新的标志物在肿瘤的诊断及预后评估中发挥作用。

关键词：Syndecan-1；多发性骨髓瘤

中图法分类号：R733.3 **文献标识码**：A

参考文献：

[1] Perrimon N, Bernfidle M. Specificities of heparan sulphate proteoglycans in developmental processes[J]. Nature, 2000, 404(6779): 725-728.

[2] Carey D J. Syndecans: multifunctional cell-surface co-receptors[J]. Biochem J, 1997, 327(Pt 1): 1-16.

[3] Holen I, Drury N L, Hargreaves P G, *et al*. Evidence of a role for a non-matrix-type metalloproteinase activity in the shedding of syndecan-1 from human myeloma cells [J]. Br J Haematol, 2001, 114(2): 414

-421.
[4] 李新燕，张学光，Kiein B，等. 人多发性骨髓瘤细胞Syndecan-1的表达分泌与调节[J]. 中华血液学杂志，2000，(21)：572-576.
[5] Borset M，Hjertner O，Yaccoby S，*et al*. Syndecan-1 is targeted to the uropods of polarized myeloma cells where it promotes adhesion and sequesters heparin-binding proteins [J]. Blood，2000，96(7)：2528-2536.
[6] Derksen P W，Keehnen R M，Evers L M，*et al*. Cell surface proteoglycan syndecan-1 mediates hepatocyte growth factor binding and promotes Met signaling in multiple myeloma[J]. Blood，2002，99(4)：1405-1410.
[7] Lacy H M，Sanderson R D. Sperm protein 17 is expressed on normal and malignant lymphocytes and promotes heparan sulfate-mediated cell-cell adhesion[J]. Blood，2001，98(7)：2160-2165.
[8] Viklund L，Loo B M，Hermonen J，*et al*. Expression and characterization of minican，a recombinant syndecan-1 with extensively truncated core protein [J]. Biochem Biophys Res Commun，2002，290(1)：146-152.
[9] Fitzgerald M L，Wang Z，Park P W，*et al*. Shedding of syndecan-1 and -4 ectodomains is regulated by multiple signaling pathways and mediated by a TIMP-3-sensitive metalloproteinase[J]. J Cell Biol，2000，148(4)：811-824.
[10] Seidel C，Borset M，Hjertner O，*et al*. High levels of soluble syndecan-1 in myeloma-derived bone marrow：modulation of hepatocyte growth factor activity[J]. Blood，2000，96(9)：3139-3146.
[11] Bayer Garner I B，Sanderson R D，Dhodapkar M V，*et al*. Syndecan-1 (CD138) immunoreactivity in bone marrow biopsies of multiple myeloma：shed syndecan-1 accumulates in fibrotic regions[J]. Mod Pathol，2001，14(10)：1052-1058.
[12] Seidel C，Sundan A，Hjorth M，*et al*. Serum syndecan-1：a new independent prognostic marker in multiple myeloma[J]. Blood，2000，95(2)：388-392.

（编辑 汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2005)18-1893-03

综述

多药耐药蛋白在胆汁淤积中的作用研究进展

Advances of multidrug resistance proteins in cholestasis

祝建勇 综述，别 平，韩本立 审校 （第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所，重庆 400038）

多药耐药蛋白(multidrug resistance proteins，MRPs)是位于多种极性细胞膜表面介导其底物依赖ATP自细胞内转运至细胞外的一类膜糖蛋白，属于具有ATP结合域的盒式跨膜转运子蛋白超家族(ATP binding cassette，ABC-transporter proteins superfamily)[1]。人类多药耐药蛋白家族至少包括6个成员：MRP1(ABCC1)、MRP2(ABCC2)、MRP3(ABCC3)和目前认识尚不清楚的MRP4、5、6[2-3]，既往的研究集中在肿瘤耐药性上，近来大量实验表明MRPs介导了淤胆时胆汁成分，特别是结合型胆红素跨细胞膜的转运[4-6]，现就此加以综述。

1 MRPs的基因定位及蛋白表达

人类MRP1基因定位于染色体16p13.12-13，约200×10^3 bp，基因转录成$(7.8\sim8.2)\times10^3$ bp mRNA，编码一种由1 531个氨基酸组成、N端糖基化、依赖ATP的膜糖蛋白，分子质量约为190×10^3。进一步的研究表明，MRP2～6基因分别定位于染色体10q23-24、17q21.3、13q31-32、3q27和16p13.1，其中MRP1、2、3基因都含有21个保守的剪接结合位点，MRP2基因含有32个外显子，长度从56×10^3 bp(Exon 6)至255×10^3 bp(Exon 10)，而MRP1、MRP3基因只含有31个外显子，其编码氨基酸序列的一致性分别为48%(MRP1 *vs* MRP2)、46%(MRP2 *vs* MRP3)和58%(MRP1 *vs* MRP3)[3,7-9]。

MRP1在多种正常组织中表达，肾上腺、肺、心脏和骨骼肌中表达较高，在肝、肾脏、结肠和脑组织中亦有低度表达[3]。在将MRP1 cDNA转染给猪肾细胞株LLC-PK1或狗肾细胞株MDCKII后，MRP1蛋白定位于细胞膜的基侧面，将其底物快速地排出细胞[10]。原代培养的大鼠肝细胞研究表明，MRP1在进入细胞周期的肝细胞膜上表达增高，而在静止的肝细胞膜上表达处于低水平，并且仅在相邻细胞膜上表达，在孤立细胞的膜上无表达，提示MRP1介导的将有机阴离子从基侧面排出细胞的功能与细胞增殖有关[11]，Roelofsen等[12]还发现大鼠MRP1的变化与细胞极性形成关系密切。

与MRP1在组织中广泛表达不同的是，MRP2仅限于肝脏、肾脏、十二指肠和回肠，在肝细胞膜的毛细胆管面上表达水平最高，是现有MRPs中唯一表达于极性细胞顶浆面者，其生理功能在于将胆红素葡萄糖醛酸酯以及其他双亲性双价阴离子主动转运至胞外[13-14]。Scheffer等[15]研究发现，MRP3蛋白存在于肾上腺、肾脏、结肠、胰腺和肝脏等，但在正常肝胆组织中表达甚低。MRP4也仅微量表达于前列腺、肺、骨骼肌、胰腺、睾丸、卵巢、膀胱和胆囊，MRP5分布与MRP1相似，广泛存在于各种极性细胞膜的基侧面[2]，但是MRP6仅存在于肝脏和肾脏[3]。

2 MRPs的底物特异性

细胞转染以及膜囊泡(membrane vesicle)技术的成熟为研究MRPs的底物特异性和功能提供了有效而可靠的途径。众

作者简介：祝建勇(1978-)，男，湖北省孝感市人，博士研究生，医师，主要从事肝胆外科方面的研究。电话：023)68754169

收稿日期：2003-09-26；修回日期：2004-08-12