维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)04－0671－04

胃肠肿瘤中信号转导蛋白的表达及其与环氧化酶－2的关系

谯 敏 综述；王丕龙 审阅

(重庆医科大学临床学院消化内科,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R735;R730.231 【文献标识码】B 【收稿日期】2002－09－12

流行病学资料显示:在胃肠道肿瘤组织中还氧化酶－2(COX－2)呈高表达状态,长期服用 COX－2 抑制剂可降低消化道肿瘤的发病危险性,具有一定的化学预防作用。近期研究表明,使用 COX－2 抑制剂可能通过细胞信号转导通路来诱导肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤细胞生长、增殖,这为临床肿瘤治疗又提供了一新的抗癌思路。现就在胃肠肿瘤组织中 COX－2 的表达,细胞信号转导和肿瘤干预治疗的最新进展作一综述。

1 细胞信号转导通路及其在胃肠道肿瘤中的表达

1.1 MAPKs 信号转导通路

丝裂原活化蛋白激酶(mitigen－activated protein kinases,MAPKs)是细胞内的一类丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶,是信号从细胞表面转导到细胞内部的重要传递者。MAPKs 信号转导通路可以引起非常广泛的细胞反应,如对细胞周期的调控,对增殖、分化、发育的调控,在细胞的恶性转化中也起着重要的作用。在哺乳动物中,已确定存在三条并行的 MAPKs 信号通路[1]。

第一条是 ERK 信号转导通路(extracellular signal－regulated protein kinases),包括 ERK1 和 ERK2(即 p44MAPK 和 p42MAPK),这是目前研究得最为透彻的一条 MAPK 信号转导通路。在哺乳动物中,ERK 信号通路被认为是经典的 MAPK 信号转导途径。受体酪氨酸激酶、钙离子、蛋白激酶 C 均可激活 ERK 信号转导途径。第二条是 JNK/SAPK 信号转导途径。用紫外线照射细胞后,一种蛋白激酶能够磷酸化 c－Jun,该蛋白激酶被称为 c－Jun 氨基末端激酶(c－JunN－terminal kinase,JNK),又被称为应激活化蛋白激酶(stress－activated protein－kinase,SAPK),能被各种细胞外刺激,包括应激刺激(紫外线,热休克,渗透压休克及蛋白合成抑制剂)、细胞因子(TNF,IL－1)及 G 蛋白偶联受体激活。第三条是 p38MAPK 通路。1993 年 Brewster 等人在研究高渗环境对真菌的影响时发现了 p38MAPK[2],1994 年从小鼠肝脏 cDNA 文库中筛选 p38MAPK 克隆,克隆编码由 360 个氨基酸组成的 38KD 蛋白,说明 p38MAPK 也存在哺乳动物细胞内。p38MAPK 通路的激活剂与 JNK 通路相似。此外,p38MAPK 还可被脂多糖及革兰氏阳性菌胞壁成分激活。p38MAPK 途径的激活过程与 JNK 途径相似。

在哺乳动物中,有多种机制维持这三条通路中每一条 MAPKs 信号转导通路信号转导的特异性,同时,细胞可对不同细胞外刺激信号进行整合,最终产生协调的生物学效应。

1.2 MAPKs 信号通路在消化道肿瘤中的表达

部分研究者发现在消化道肿瘤中 MAPK 激酶的活性下调甚至失活。AttenMJ[3]等人发现胃癌组织 MAPK 的丰度和活性降低,并认为这种降低与人胃腺上皮正常生长的失控有关。ParkKS[4]等人检测了 21 例直肠结肠癌标本后,发现 71% 的标本中的 MAPK 的特异性激活比正常组织中低 2～4 倍,ERK 的活性也降低。MARK、ERK 的下调也出现在腺瘤中,且尽管 MAPK 活性在腺癌和腺瘤中均下降,但腺癌中 MAPK 的活性比配对的腺瘤中高,这就提示,MAPK 级联的下调可能是由早期的遗传学事件所致,可能与失去了正常的生长调控有关,MAPK 的活性可能在腺瘤向腺癌转化中提高,故 MAPK 的激活可能在肿瘤的进展中有着重要作用。他们在结肠直肠癌组织中还观察到了 ras 基因的过

作者介绍:谯 敏(1977－),女,硕士,
主要研究方向:消化系统疾病。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表达和突变。ras 基因的产物是 Ras,在功能上是 MAPK 通路中 Raf－1 的上游,它是激活 ERKl/2 的重要因子。他们认为,在结肠腺瘤向腺癌进展的过程中,ERK 和 MEK 活性上升是由 ras 突变所致。Eggestion S[5] 等发现在结肠直肠腺癌和腺瘤中 p42/p44MAPK 显著失活,并认为 p42MAPK 失活是结肠直肠癌形成过程中的早期事件。

另一部分研究者则发现消化道肿瘤组织中的各种 MAPK 激酶可能被激活上调。Bang yj[6] 等人通过对胃腺癌标本的研究发现胃腺癌中 MAPK 活性增加并伴随有 MKP－1(mitogen－activated protein kinase phosphatase－1)的过度表达。MKP－1 蛋白,是一种 p42MAPK 特异性的磷酸化酶,可以通过对 p42MAPK 的磷酸化使其失活而对 MAPK 活性进行负调控。在该研究中,MAPK 和 MKP－1 的活性都增加,可能是由于位于核内的具有活性的磷酸化的 MAPK 与胞浆内的 MKP－1 之间存在不同的亚细胞区,也可能是由于某种原因使 MKP－1 在发挥其磷酸化 MAPK 的作用时定位不准确。Kuno Y[7] 等人研究了 64 例确诊为直肠结肠癌病例的手术标本,其中 75% 的病例有 MAPK 的激活,他们认为,MAPK 的单独激活并不足以引起恶性肿瘤的发生,但 MAPK 途径参与了结肠直肠肿瘤的进展。同时研究了 35 例确诊为胃癌的病例的手术切除标本,发现肿瘤特异性 MAPK 激活率仅为 17%(6 例),故认为胃癌和结肠直肠癌 MAPK 激活的信号途径可能存在着部分不同。MikiH[8] 等人对直肠结肠癌研究后发现,癌细胞 p38MAPK 激活率非常显著,而 ERK 激活并不明显。增殖细胞核抗原(PCNA)标记指数和凋亡指数在癌组织中都有显著上升,故他们认为 p38MAPK 的激活和直肠结肠癌细胞的增殖和凋亡增加有关。此外,结肠直肠细胞系的血清剥夺诱导凋亡能被 SB203580(一种特异性的 p38MAPK 抑制剂)显著抑制,提示凋亡可能是由 p38MAPK 通路介导的。

上述多位学者的研究结果提示,MAPKs 信号通路在胃肠肿瘤的发生和发展过程中可能有着重要作用。MAPK 的各种亚型的失活可能为胃癌和结肠直肠癌形成过程中的早期事件,可能与失去了正常生长的调控有关。而在癌症的进展过程中,MAPK 的各型信号调节激酶的活性上调,这可能是由 ras 突变所致。

2 环氧化酶 2(COX－2)在肿瘤中的表达及其与 MAPKs 信号通路的关系

2.1 COX－2 的一般特性

COX 有两种工酶,COX－1 与 COX－2。COX－2 基因定位于 1 号染色体的 1q25.2～25.3,由 10 个外显子和 9 个内含子构成,编码由 604 个氨基酸残基组成的多肽。COX－2 是酶的诱导形式,在正常组织中水平很低,COX－2 基因可被多种刺激因素上调,这些因素存在于细胞内外,包括各种生长因子和细胞因子、内毒素、致癌剂和癌基因产物等。各种刺激因素有各自不同的胞内信号传导系统,具有组织的特异性。因此,调节 COX－2 基因表达过程极为复杂,涉及细胞信号传导系统的诸多方面。

2.2 COX－2 和肿瘤的发生、发展及预后

研究表明,在胃癌组织和癌前病变的腺瘤或增生性组织中,均发现 COX－2 的表达明显增高。Ristimaki 等[9] 采用 Northern blot 法检测了 12 例胃腺癌活标本的 COX－1 和 COX－2,结果发现胃癌组织 COX－2mRNA 水平明显高于正常胃粘膜,而 COX－1 mRNA 水平在癌组织中未见升高。免疫组化检测发现 COX－2 蛋白局限于细胞质和过度增殖的腺体,但在周围间质细胞及胃粘膜的正常腺管未见表达。MurataH 等[10] 采用 Western 印迹方法检测 15 例胃癌的 COX－1 和 COX－2 蛋白水平,发现 66.7% 病例癌组织的 COX－2 水平明显增高,但 2 例早期胃癌和 13 例中的 3 例进展期胃癌呈弱表达水平或与癌旁组织有相同水平的表达。而 COX－1 在癌和癌旁组织的表达无显著差别。提出胃癌组织 COX－2 的过度表达与癌细胞中淋巴管浸润、淋巴结转移和 TNM 临床病理分期密切相关,与组织病理分级、肿瘤大小、静脉癌栓不相关。提示 COX－2 的过度表达可增强胃癌的淋巴浸润及转移潜能,且预后不佳。

2.3 COX－2 介导的信号转导

前列腺素(PGs)是一种参与了全身各种稳态和炎症过程的复合物。它是由磷脂酶 A_2(PLA2)和环氧化酶(COX)联合作用所形成的。磷脂酶 A_2 从细胞膜磷脂的 sn－2 位置释放花生四烯酸,而 COX 则将花生四烯酸转变为分子内过氧化物的中间体 PGH2。PGH2 接着被细胞特异性合成酶转变为 PGs。研究认为 MAPK 级联具有前列腺素调节子

维普资讯 http://www.cqvip.com

的功能。Lin 等人已证明,胞液中磷脂酶 A_2 的激活是由 MAPK 介导的。Kramer 等发现血栓素激活人类血小板中 ERK 和 p38MAPK,而 cPLA2 是其下游的靶目标。Fan XM[11]等人研究认为 IL-1β 诱导胃癌细胞 COX-2 表达是由 p38 和 p42/44 途径介导的。且用特异性的 MEK 和 p38 抑制剂 PD98059,SB203580 可以抑制 IL-1β 诱导的 COX-2mRNA 和蛋白表达以及 PGE_2 合成。Michael[12]等已证实肝细胞生长因子(HGF)所触发的鼠胃上皮细胞中 COX-2 基因激活是由 ERK2 信号通路介导的。还有研究表明激活 MEKK1 - SEK1/MKK4 - p38MAPK 途径可以诱导 COX-2 生成。

3 COX-2 抑制剂对肿瘤信号转导的干预作用

随着人们对细胞信号转导及其异常与肿瘤关系研究的不断深入,认识到针对信号转导异常环节进行抗癌治疗的重要性和可行性。提出信号转导干预治疗(interference therapy insignal transduction)这一新概念。即针对信号转导通路中发生异常环节来干预这种不正常的信号转导,以逆转肿瘤细胞恶性表型,从而达到抑制肿瘤生长的目的。目前发现 COX-2 在胃肠道肿瘤中呈高表达状态,与肿瘤发生发展及预后密切相关。研究表明,COX-2 表达的调控主要是转录的调控,而 COX-2 抑制剂可在转录水平调节 COX-2 的表达,其调节通路包括:酪氨酸磷酸化、p38MAPK 活化,反应性氧化代谢中间产物产生,使 PGHS 转录增加[13]。这为以 COX-2 为靶向的肿瘤治疗和针对 COX-2 信号转导通路的信号转导干预治疗提供了理论基础和实验依据,日益受到人们关注。

NSAIDs 可以通过作用于 MAPKs 信号转导通路来诱导肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤细胞的增殖和生长。Elder DJ[14]等人认为,NS-398 诱导直肠结肠细胞凋亡的作用是由 MEK/ERK 通路介导的,而未发现与 p38MAPK 和 JNK 通路间存在相关性。LennonAM[15]等研究证实,各种 NSAIDs 药物能够激活三种 MAPKs,即 MAPK、ERK 和 JNK,而这种激活足依赖于反应性氧化族的出现。Kim TI[16]等人在实验中发现,用 NSAIDs 处理 HT-29 结肠癌细胞,引起时间和剂量依赖性的调亡发生,伴随三种 MAPK 激酶亚型的持续性激活。Rice PL[17]等认为苏林酸诱导的直肠结肠腺癌细胞凋亡部分原因是抑制 ERK1/2 的磷酸化。Schwenger P[18]等发现水杨酸钠通过 p38MAPK 诱导细胞凋亡,同时抑制 TNF 介导的 JNK/SAPK 及 p42/p44MAPK 的激活。提示 p38MAPK 和它所诱导的细胞凋亡在阐明 NSAIDs 的抗肿瘤作用方面可能有重要的作用。HusainSS[19]等人用 NS-398(选择性 COX-2 抑制剂)和 IND(非选择性 NSAIDs)对细胞外信号转导通路进行了研究,发现 NSAIDs 除了抑制 COX 以外,还能抑制 ERK2 等胃癌细胞丝裂原信号转导所必需的磷酸化蛋白激酶,从而发挥抑制肿瘤细胞增生和生长的作用。

此外,NSAIDs 诱导凋亡的作用机制可能有诱导凋亡前基因的表达;抑制环氧化酶而引起花生四烯酸聚集可以激活神经氨酰产物(一种强烈的凋亡诱导剂);据报道,一种新型的 COX-2 抑制剂 celecoixib 可以减少动物和人的结肠癌的发生[20]其原因可能部分是由于激活 NF-κB,而先前有报道认为结肠癌细胞中 NF-κB 的激活可以上调 FasL,并促使 Fas 介导的杀细胞作用,还可以使诱导凋亡的治疗方法如化学治疗和辐射治疗的敏感性增加[21]。celecoixib 还可以抑制蛋白激酶 B(PKB)的磷酸化[21],因而抑制 PKB 的抗凋亡活性。

4 结语与展望

综上所述,COX-2 在胃肠道肿瘤中呈高表达状态,与肿瘤发生发展及预后密切相关,因此以 COX-2 为靶向的肿瘤治疗很有可能是一种较特异而有效的治疗方法,从细胞信号转导途经来解释 COX-2 抑制剂的抗癌的可能机制,开展这方面的研究,对阐明 COX-2 抑制剂的抗癌机理和临床应用具有重要意义,并为肿瘤的多角度、多层次的治疗提供理论依据。

参 考 文 献

[1] Cano E, Mahadevan LC. Parallel signal processing among mammalian MAPKs[J]. TIBS, 1995;20:117.

[2] Brewster JL, De valoir T, Dwyer NC, et al. An osmosensing signal transduction pathway in yeast[J]. Science, 1993;259:1760.

[3] Atten MJ, Attar BM, Holian O. Decrease MAP kinase activity in human gastric adenocarcinoma[J]. Biochem Biophys

维普资讯 http://www.cqvip.com

Res Commun, 1995;212:1001.

[4] Park KS, Kim NG, Kim JJ, et al. Differential regulation of MAP kinase cascade in human colorectal tumorigenesis[J]. Br J Cancer, 1999;81:1116.

[5] Eggestion S, Franke M, Kutschka I, et al. Expression and activity of mitogen activated protein kinases in human colorectal carcinoma[J]. Gut, 1999;44:834.

[6] Bang YJ, Kwon JH, Kang SH, et al. Increase MAPK activity and MAP-1 overexpression in human gastric adenocarcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998;250:43.

[7] Kuno Y, Kondo K, Iwata H, et al. Tumor-specific activation of mitogen-activated protein kinase in human colorectal and gastric carcinoma tissues[J]. Jpn J Cancer Res, 1998;89:903.

[8] Miki H, Yamada H, Mitamura K. Involvement of MAP kinase in apoptotic and proliferative alteration in human colorectal cancers[J]. Anticancer Res, 1999;19:5283.

[9] Ristimaki A, Honkanen N, Jankala H, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma[J]. Cancer-Res, 1997;57:1276-1280.

[10] Murata H, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma[J]. Am J Gastroenterol, 1999;94:451-455.

[11] Fan XM, Wang CY, Lin M, et al. Interleukin-1β induce cyclo-oxygenase-2 expression in gastric cancer cells by the p38 and p44/42 mitogen-activated protein kinase signaling pathways[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2001;16(10):1098-1104.

[12] Michael K, Sasaki E, Halter F, et al. HGF triggers activation of the COX-2 gene in rat gastric epithelial cells: action mediated through the ERK2 signaling pathway[J]. FASEB, 1999;13(15):2184-2189.

[13] Mifflin J L, Saada J F, Dimari J, et al. Mechanisms of aspirin-mediated PGHS-2 gene induction in a human intestinal supepthelial myofibroblast cell line[J]. Gastroenterology, 1998;114(4pt2):G0934.

[14] Elder DJ, Halton DE, Playle LC, et al. The MEK/ERK pathway mediates COX-2-selective NSAID-induced apoptosis and induced COX-2 protein expression in colorectal carcinoma cell[J]. Int J Cancer, 2002;99:323-327.

[15] Lennon AM, Ramauge M, Pierre M. Role of redox status on the activation of mitogen-activated protein kinase cascades by NSAIDs[J]. Biochem Pharmacol, 2002;63:163-170.

[16] Kim TI, Jin SH, Kim WH, et al. Prolonged activation of mitogen-activated protein kinase during NSAID-induced apoptosis in HT-29 colon cancer cells[J]. Int J Colorectal Dis, 2001;16:167-173.

[17] Rice PL, Goldberg RJ, Ray EC, et al. Inhibition of extracellular signal-regulated kinase 1/2 phosphorylation and induction of apoptosis by sulindac metabolites[J]. Cancer Res, 2001;61:1541-1547.

[18] Schwenger P, Bellosta P, Vietor I, et al. Sodium salicylate induces apoptosis via p38 mitogen-activated protein kinase but inhibits tumor necrosis factor-induced c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase activation[J]. Pro Natl Acad SciU S A, 1997;94:2869-2873.

[19] Husain SS, Szabo IL, Pai R, et al. MAPK(ERK2) kinas-a key target for NSAIDs-induced inhibition of gastric cancer cell proliferation and growth[J]. Life Sci, 2001;69:3045-3054.

[20] Reddy S, Hirose Y, Lubet R, et al. Chemoprevention of colon cancer by specific cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, administered during different stages of carcinogenesis[J]. Cancer Res, 2000;60:293-297.

[21] Tegeder I Pfeilschifer J Geisslinger G. cyclooxygenase-independent actions of cyclooxygenase inhibitors[J]. FASEB, 2001;15(12):2057-2072.

(上接第 670 页)

[19] Cheng XS, Shimokawa H, Mmii H, et al. Role of superoxide anion in the pathogenesis of cytokine-induced myocardial dysfunction in dogs in vivo[J]. Cardiovasc Res, 1999;42(3):651-659.

[20] Chosh S, NgLL, Talwar S, et al. Cardiotrophin-1 protects the human myocardium from ischemic injury. Comparision with the first and second window of protection by ischemic preconditioning[J]. Cardiovasc Res, 2000;48(3):440-447.