维普资讯 http://www.cqvip.com

426-428 肿瘤转移，肿瘤抑制基因 nm23基因 (36)

第23卷 第4期 重庆医科大学学报 Vol.23 No.4

1998 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1998

肿瘤转移抑制基因nm23研究进展

R73-37

R730.231.9

成都市第一人民医院 秦 方* 综述

基础医学院病生教研室段积华 审校

中图分类号 R73

肿瘤浸润转移是其难以治愈的主要原因。肿瘤浸润转移是由一系列复杂的过程所组成，包括肿瘤在局部挤压、酶对周围组织的破坏、血管形成、细胞脱离原发癌组织进入淋巴循环和血循环，从而在远隔部位形成转移灶。整个浸润转移过程受许多特殊基因的调控。近年来发现了一类与抑制肿瘤浸润转移有关的基因，即肿瘤转移抑制基因，如nm23、TIMP和WDNM等，其中nm23尤为引人注目。

1 nm23基因及蛋白产物的发现

nm23基因最早是在1988年美国国立癌症研究所Steeg等人在对7个具有不同转移能力的鼠黑色素瘤细胞系K－1735进行研究时，用消减杂交法(Substractive hybridization)分离出来的[1]。nm23基因为人类正常基因，定位于17号染色体长臂(17q21)。人类nm23基因簇由三个基因所组成即：nm23－H_1、nm23－H_2、nm23－H_3[2,3]。nm23－H_1全长8.5kb，由5个外显子及4个内含子所组成[4]。nm23－H_1和nm23－H_2的氨基酸序列有88%同源性，二者在染色体上相距4千个碱基对。nm23－H_3的核苷酸序列在40－70bp与nm23－H_1和nm23－H_2不同，其余的核苷酸序列与二者分别有83%、90%相同。nm23－H_1和nm23－H_2基因大多数外显子---内含子剪结位点(Splicing Sites)是相同的，nm23基因在进化上的高度保守可能与其功能有关。

人的nm23－H_1和nm23－H_2分别编码核苷二磷酸激酶(NDPK)的A、B二链[5]，其中nm23－H_1蛋白质分子量约为17000KD。

2 nm23基因抑制肿瘤转移的实验研究

nm23基因抑制肿瘤转移的作用在体外转染实验、动物实验中得到证实。在人类的某些肿瘤中也发现了nm23基因与抑制肿瘤转移有关。

Leone[6]将鼠的nm23－1基因的cDNA转染鼠黑色素瘤细胞系k－1735，结果发现有nm23－1表达的克隆转移能力明显降低，将nm23－1阳性克隆和阴性克隆分别注入不同的小鼠体内，注射有阳性克隆的小鼠体内转移灶形成数量明显少于注射有阴性克隆的小鼠，且有证据表明nm23表达阳性的细胞克隆其转移能力降低不是直接抑制肿瘤细胞生长的结果。作者在实验中还观察到在软琼脂培养时，nm23－1阳性的细胞克隆受TGF－β(转化生长因子－β)刺激后无克隆形成增加，而nm23－1阴性，具有高转移能力的黑色素瘤细胞受TGT－β刺激后在软琼脂上形成的克隆明显增加，这也证实了以往所发现的有转移能力的细胞在软琼脂培养时受TGF－β刺激克隆形成增多。而非转移细胞不受TGF－β刺激。人nm23基因转染鼠黑色素瘤B16F10细胞系后其侵袭转移能力明显降低，且荷瘤小鼠成活率明显提高[7]。用nm23－H_1 cDNA转染人MAD－MD－435乳腺癌细胞系观察到了类似的结果[8]。最近有人将鼠的nm23－M_1和nm23－M_2分别及同时转染具有高转移能力的鼠黑色素瘤细胞系FE7，结果发现表达nm23基因的细胞克隆其转移能力受到明显抑制，且nm23－M_1和nm23－M_2分别作用及二者同时作用的效果无显著性差异。尽管另有报道[9]发现人nm23－H_1与抑制肿瘤转移关系更为密切，但目前尚无证据证实nm23－H_1和nm23－H_2之间的功能差异。

nm23基因与某些人类肿瘤转移浸润也有一定的关系。1991年Hennessy[10]测定了71例初发乳腺癌nm23 mRNA的水平，结果发现分化良好的肿瘤nm23 mRNA水平较分化不良的肿瘤高，且mRNA水平与乳腺癌淋巴结转移呈负相关，与无

* 女，1968－06出生，硕士生

维普资讯 http://www.cqvip.com

瘤生存期及总生成期成正相关。用免疫组织化学方法[14]对乳腺良恶性病变进行研究发现:正常乳腺上皮、良性乳腺疾病及肿瘤周围正常组织nm23蛋白质阳性,乳腺原位导管癌中粉刺状癌与非粉刺状癌之间nm23蛋白质的表达有显著性差异,7例粉刺状癌无一例nm23蛋白表达,而非粉刺状癌(实性癌、筛状癌、细小乳头状癌)癌细胞浆内可见不同程度的nm23蛋白的表达,这也是粉刺状癌恶性程度更高的证据之一。对浸润性导管癌的肿瘤级别、首发肿瘤大小、是否具有淋巴结转移和血管侵袭以及nm23蛋白水平进行多元回归分析发现nm23蛋白质的阳性表达与肿瘤的级别及淋巴结转移呈负相关,与肿瘤血管浸润及肿瘤大小无相关。

肝细胞肝癌的nm23基因的转录,翻译水平与肿瘤扩散、浆膜浸润以及肿瘤转移呈负相关。转录水平低,无nm23蛋白表达者的预后差,生存期短[11]。另有研究发现nm23-H_1,蛋白表达与肝细胞癌肝内转移有关,而未发现nm23-H_1,蛋白表达与肿瘤大小、Edmonelcon's病理分级及肝包膜侵袭有关[13]。

结肠癌组织nm23蛋白质表达与远处肝转移有一定关系[14]。

胃癌及临近正常组织nm23-H_1,mRNA水平无明显差异,有浆膜浸润(T3T4)和淋巴结转移者(PN_1 PN_2)mRNA明显降低,但与肝、腹膜转移无关。nm23mRNA低表达与预后不良有关[15]。

进展期卵巢癌nm23-H_1、mRNA水平与淋巴结转移呈负相关,无淋巴结转移的卵巢癌显示高水平的mRNA[16]。

3 nm23基因抑制肿瘤转移的机制

nm23基因抑制肿瘤转移的生理机制尚不清楚,但有较多的实验发现在肿瘤的进展中有nm23基因下调、等位基因缺失、基因突变等支持了nm23在抑制肿瘤转移中的作用。nm23基因产物NDPK具有广泛的生物学作用,其中某些作用也可能与抑制肿瘤转移有关。

3.1 等位基因缺失

Cohn[17]对21例手术时无远处转移的结肠癌病人进行观察,发现11例患者有nm23-H_1,等位基因缺失。另10例无等位基因缺失。术后随访25个月,8/11(72.73%)原有nm23-H_1等位基因缺失者发生了远处转移,其中有2例手术时TNM分级为Ⅰ级,而原无nm23-H_1等位基因缺失的10例病人中仅2例(20%)发生了远处转移,其中手术时TNM分级在Ⅰ或Ⅱ级者无一例发生远处转移。作者同时用P53附近的YNZ. 22.1探针在P53附近探查,未发现P53的YNZ. 22.1位点等位基因缺失与肿瘤远处转移的关系。nm23-H_1位于17号染色体q21位点,p53位于17号染色体p13位点,二者不同的等位基因缺失的模式提示nm23-H_1缺失与肿瘤转移的关系不能用17号染色体大部分缺失来解释,因而显示出nm23基因抑制肿瘤转移的作用。

另有研究发现[18]从nm23-H_1内含子4中得到的探针来探测初发结肠癌的杂合性丢失(Loss of Heterozygosity, LOH),其中3/29发现nm23基因有LOH,并且发现有LOH的病人其nm23-H_1mRNA水平较无LOH的病人mRNA水平低得多,但这结果较Cohn报道的频率低。

3.2 基因突变

1993年Wang[19]用逆转录PCR、DNA测序以及Southern杂交分析20例结肠癌病人nm23基因改变,8例有其它器官转移的病例中,其中4例有nm23基因变化,这4例中有1例发现nm23-H_1有64个碱基的缺失,另有一例未得到PCR扩增产物,推测可能因为5′或3′转录后发生重排导致不能扩增nm23 cDNA序列,也可能是突变发生在nm23启动子部分,导致该基因表达降低。另二例显示nm23等位基因缺失。无远处转移的12例结肠癌病人均未发现nm23基因的改变。最近有研究[20]发现在一例转移性神经纤维瘤中nm23-H_2基因第48个氨基酸由亮氨酸变为缬氨酸,这些实验均支持nm23基因在抑制肿瘤转移中起着一定的作用。nm23基因的改变,导致了肿瘤的浸润转移。

3.3 mm23蛋白(NDPK)活性与抑制肿瘤转移的关系

nm23基因抑制肿瘤转移的作用可能是通过其蛋白产物NDPK而发挥作用,NDPK生物学作用广泛,它调节肿瘤转移的生化机制不清,目前至少有3种生化功能可能与其抑制肿瘤转移有关。

3.3.1 根据mm23旦白序列与GAP(GTPase activating protein)催化区域具有同源性,故nm23蛋白可参与G蛋白介导的信号传递[21]。

3.3.2 nm23蛋白参与微管的聚合和解聚,影响细

维普资讯 http://www.cqvip.com

胞骨架，导致细胞运动[23]。

3.3.3 nm蛋白的多个亮氨酸重复排列形成类似于亮氨酸拉链(leucine Zipper)结构[2]，因而被认为可能是控制细胞增殖的转录因子。

另外nm23可促进DNA合成、细胞分化等作用均可能与其抑制肿瘤转移有关。尽管有上述机制将nm23蛋白NDPK活性与其抑制肿瘤转移的功能联系起来，但也有另一些不同的观点，即nm23抑制肿瘤转移的生物学作用与NDPK活性无关。

鼠的nm23－H_2在抑制鼠黑色素瘤细胞系FE7发生转移中起着重要作用，而人的nm23－H_2未发现类似作用，二者的差别仅在于124，131，140三个位置的氨基酸不同，而这三个氨基酸似乎与NDPK活性、功能以及该分子的多聚作用无关，因此nm23基因抑制肿瘤转移的作用很可能与目前所了解的NDPK的一般生物学作用及酶活性无关，而是由另外一些目前尚不了解的功能所致。有报道在鼠黑色素瘤细胞系K－1735是nm23/NDPK基因的表达，而不是NDPK活性与其转移能力有关。为了进一步证实NDPK活性与肿瘤转移的关系，有人将nm23cDNA的第118位组氨酸用半胱氨酸代替试图制造突变的丧失NDPK活性的nm23，遗憾的是未得到高表达突变的nm23基因克隆[24]。最近有的报道nm23的丝氨酸44磷酸化可能在其抑制肿瘤转移中起着重要作用。

3.4 nm23抑制肿瘤转移的其它有关机制

最近用含(PuF)Purine－binding transcription factor)连接位点的PNA片段对宫颈癌细胞cDNA进行筛选，得到与C－myc嘌呤结合的转录因子PuF，这个由细菌产生的17KD的PuF与人的PuF生明学活性和其它特性相同。DNA测序发现PuF与人nm23－H_2(NDPK,B亚基)基因完全一致，这一发现将nm23与C－myc癌基因联系起来，提示nm23旦白在体外可通过转录调节C－myc表达[25]。尽管没有确切证据将C－myc过度表达与肿瘤的转移联系起来，但C－myc过度表达与细胞分化之间关系已被证实，因此nm23与C－myc之间的关系可能对探索nm23抑制肿瘤转移作用提供新的线索。

nm23基因也可能通过调节其它细胞因子、粘附分子发挥作用。最近发现[7]转染了nm23基因的B16F10细胞产生的可溶性粘附分子ICAM－1明显减少，而且对LAK细胞的敏感性增强。因而推测nm23抗肿瘤转移作用可能与其抑制可溶性粘附分子ICAM－1产生和调节肿瘤表面一个肿瘤靶结构的表达(tumor target structure expression)有关。高水平的可溶性粘附分子ICAM－1与肿瘤不良预后之间的关系已有报道。粘附分子在免疫和肿瘤细胞跨内皮转移时有着重要作用，因而与肿瘤转移有关。可溶性ICAM的产量依赖于nm23基因的表达，低水平的nm23表在将导致高水平的可溶性ICAM的产生，表现为体外实验肿瘤侵袭能力增细强。

4 目前研究中的问题

尽管有较多的实验研究证实了nm23具有抑制肿瘤转移中的作用，但其具体作用机制尚不完全清楚。nm23－H_1和nm23－H_2在抑制肿瘤转移中的作用差异也无定论，尽管有实验表明nm23－H_1与抑制肿瘤转移的关系更密切，但目前尚无确切证据表明二者功能上的差异，有待于进一步深入研究。

参考文献

1. Steeg PS, et al. J Natl Cancer Inst,1988;80:200
2. Stahl JA, et al. Carcer Res,1991;51:445
3. Jiang XP, et al. Chinese J Cancer Research,1994;6:18
4. Dodey D, et al. Hum Genet,1994;93:63
5. Gilles AM, et al. J Biol Chem,1991;266:8784
6. Leone A, et al. Cell,1991;65:26
7. Ranjit S, et al. Int J Cancer,1995;60:204
8. Leone A, et al. Oncogen,1993;8:2325
9. Tokunage y, et al. Int J Cancer,1993;55:66
10. Hennessy C, et al. J Natl Cancer Inst,1991;83:281
11. Rodys JA, et al. J Natl Cancer Inst 1993;85:727
12. Nakayane T, et al. Clin Exp Metastasis,1993;11:151
13. Akioyanaguchi, et al. Cancer,1994;73:2280
14. Yamaguchi A, et al. Br J Cancer 1992;68:1020
15. Kodera y, et al. Cancer ,1994;73:259
16. Yiel A, et al. Cancer Res,1995;55:2645
17. Cohn KH, et al. Lancet,1991;338:722
18. Lamb RF, et al. Cancer Res,1996;56:916
19. Wang L, et al. Cancer Res,1993;53:717
20. Leone A, et al. Oncogene ,1993;8:855
21. Myeroff LL, et al. J Natl Cancer Inst,1993;85:147
22. Teng DHF,et al. Nature ,1991;353:437
23. Liopta LA,et al. Cell,1991;64:327
24. Dumas C, et al. EMBOJ,1992;11:3203
25. Postel EH, et al. Science ,1993;261:478

(收稿日期 1997－05－06)