

FXYP5(dysadherin)蛋白与肿瘤研究进展

吴艳综述,傅芬[△]审校

(南昌大学第二附属医院妇产科 330006)

关键词:FXYP5;dysadherin;生物学特性;机制;肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.17.039

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)17-2022-03

癌症是导致死亡的首要原因之一,而浸润和转移是其引起死亡的主要途径^[1]。对癌细胞浸润、转移机制的研究成为当今癌症防治最受关注的课题。离子转换调节器 5(FXYP5)是一种存在于多种癌细胞及少量正常细胞表面的细胞膜糖蛋白,其过表达与肿瘤侵袭、转移及恶性预后密切相关。本文将对其结构分布、相关调控机制及在肿瘤中研究进展作一综述。

1 FXYP5(dysadherin)的生物学特性

1.1 分子结构 dysadherin 最初是 Ino 等^[2]用单克隆抗体 NCG-3G10 在 cDNA 表达文库中筛选出的肿瘤细胞相关性抗原。序列分析表明,人类 dysadherin 与鼠类基因 RIC(与离子通道有关)密切相关,认为与 FXYP5 相同。研究发现^[3],dysadherin 基因转录 0.9 kb mRNA,含 534 bp 开放可读框架,蛋白含有 178 个氨基酸序列,由一个可能的信号肽(其中第 21 和 22 氨基酸之间有一个裂缝)、一个含 2 个疏水区的跨膜域(第 146~162 氨基酸序列,约为 20 个氨基酸),一个丝氨酸、苏氨酸及富含脯氨酸的胞外域(O-糖基化的靶向结构),以及一个含有带正电氨基酸残基的胞内短尾组成。研究发现,该蛋白在不同组织中糖基化程度不同,在胰腺、肺、肾、心脏等正常组织中约为 24×10^3 多肽,而在肿瘤细胞中约为 $50 \sim 55 \times 10^3$ 多肽^[4]。

1.2 蛋白分布 肝癌 PLC/PRF/5 细胞转染 dysadherin cDNA 后研究可见:组织学上,FXYP5 蛋白趋向于分布在细胞间连接较松散处,免疫电镜显示 FXYP5 存在于细胞膜表面^[2]。某些组织(如肾、脾、肺、十二指肠)及少量正常细胞(如淋巴、内皮细胞、复层鳞状上皮的基底细胞)中亦有表达。其在多种癌细胞膜,如头颈鳞状细胞癌、舌鳞状细胞癌、甲状腺滤泡癌、恶性胶质瘤、食管鳞癌、肺癌、乳腺癌、胃癌、结肠癌、胰腺癌、肝癌、肾癌、宫颈鳞状细胞癌、恶性黑色素瘤、滑膜肉瘤等均有不同程度过表达^[2,5-7]。

2 FXYP5(dysadherin)促进肿瘤发展的相关机制

2.1 FXYP5(dysadherin)调节 Na^+/K^+ -ATP 酶 研究表明^[8],FXYP5 作为 FXYP 家族成员之一,与 Na^+/K^+ -ATP 酶关系密切并调控其性能。Lubarski 等^[4]证实了二者在结构及功能上的相互作用。其研究显示,二者具有高度亲和性,FXYP5 的跨膜区与 Na^+/K^+ -ATP 酶的 α 亚基相互作用可介导其速度的增长。Miller 等^[9]发现 Na^+/K^+ -ATP 酶的 β 亚基通过调节 E-钙黏蛋白的含量来调节细胞间的黏附性,从而抑制肿瘤细胞的侵袭,而肿瘤细胞中 FXYP5 的过表达可减少 E-钙黏蛋白的表达而促进肿瘤细胞的转移。上述作用是通过调节 Na^+/K^+ -ATP 酶的数量和活力来实现的。另外,FXYP5 可以通过修饰细胞骨架结构及增大细胞间紧密连接,从而影响细

胞膜通透性及 Na^+/K^+ -ATP 酶活性。

2.2 FXYP5(dysadherin)与 E-钙黏蛋白

2.2.1 FXYP5(dysadherin)下调 E-钙黏蛋白 FXYP5(dysadherin)通过下调 E-钙黏蛋白促进侵袭及转移^[2]。E-钙黏蛋白是调节黏附反应的重要媒介,介导同种细胞黏附和维持正常细胞形态完整性,进行组织修复,在许多肿瘤的发展及转移中发挥重要作用。将 dysadherin cDNA 转染至肝癌细胞^[2],细胞形态学改变及 Ca^{2+} 依赖的细胞聚集分析显示,细胞间黏附性下降、E-钙黏蛋白表达及功能下调,而 E-钙黏蛋白 mRNA 水平无明显改变,提示其是在转录后水平下调 E-钙黏蛋白。因此,FXYP5(dysadherin)通过下调 E-钙黏蛋白使细胞间黏附功能下降是恶性肿瘤细胞发生转移的关键步骤之一。

2.2.2 FXYP5(dysadherin)O-糖基化抑制 E-钙黏蛋白功能

FXYP5(dysadherin)的 O-糖基化对细胞 dysadherin 蛋白稳定表达十分重要。Tsuiji 等^[10]发现,dysadherin 是 O-糖基化黏液状分子,将转染 dysadherin 的肝癌细胞在含有 O-糖基化抑制剂苯甲基- α -GalNAc 的培养液中培养,发现促进同种细胞黏附,而细胞形态亦发生改变,表明 dysadherin O-糖基化抑制后,其抗黏附作用减弱。在 dysadherin 转染组中抑制 O-糖基化,发现 dysadherin 蛋白表达下调及 E-钙黏蛋白表达上调,对照组二者表达无影响。因此,FXYP5 中 O-糖基化结构能阻止黏附蛋白结合,抑制 E-钙黏蛋白功能,从而促进肿瘤侵袭、转移。

2.2.3 FXYP5(dysadherin)与 E-钙黏蛋白竞争结合肌动蛋白

细胞间 E-钙黏蛋白通过与肌动蛋白细胞骨架相连形成连接复合体,从而发挥细胞间黏附作用。Nam 等^[11]发现,在 2 株 E-钙黏蛋白阳性表达的乳腺癌细胞株中敲除 dysadherin 基因后,总 E-钙黏蛋白表达没有下降,却抑制了 E-钙黏蛋白与肌动蛋白细胞骨架的连接。因此,推测二者可能竞争结合肌动蛋白,影响其黏附功能,增加癌细胞侵袭能力,有助于肿瘤细胞浸润生长和由原发灶脱落转移。

2.3 FXYP5(dysadherin)与趋化因子配体 CCL2

研究显示,FXYP5(dysadherin)上调趋化因子配体 CCL2^[8]。而 CCL2 能促进肿瘤进展^[12]。Nam 等^[11]在转染了 dysadherin 沉默基因的乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 中研究 728 个不同基因的表达,发现 CCL2 受 dysadherin 基因敲除影响最大。FXYP5(dysadherin)通过 CCL2 自身分泌回路的建立促进肿瘤细胞体外侵袭及影响肌动蛋白结构;通过旁分泌途径促进内皮细胞迁移,形成新血管;此外,部分通过活化 NF- κ B 途径,上调 CCL2 表达,进而促进肿瘤进展。

2.4 FXYP5 与丝氨酸/苏氨酸激酶 Akt 途径 Akt 作为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶多个信号转导通路中的中枢效应蛋白,在

维持细胞正常生理功能方面发挥重要作用, Akt 蛋白过表达及该途径的活化与肿瘤发展密切相关。Lee 等^[13]在乳腺癌细胞株中研究发现, FXYD5 过表达通过 Akt 途径活化促进肿瘤发生、发展, 并且可能通过活化 Akt 途径促进 CCL2 的产生, 进一步促进肿瘤进展。

2.5 FXYD5 与上皮-间质转变 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 研究表明, FXYD5 可能参与了上皮受损后的重建和修复^[14], 诱导 EMT 标记蛋白波形蛋白合成, 促进肿瘤干细胞形成^[15]。在滑膜肉瘤中研究发现其与上皮-间质转变相关, 即: 上皮细胞掩饰细胞间连接结构, 表达间叶细胞蛋白, 改装细胞外基质, 从而实现转移^[5]。EMT 是一个赋予肿瘤细胞能力、脱离原发肿瘤、浸润组织及远处转移的关键过程。因此, FXYD5 能够促进 EMT, 最终导致肿瘤发生和转移。

3 FXYD5 (dysadherin) 与部分肿瘤研究进展

3.1 FXYD5 (dysadherin) 与头颈部肿瘤 Nakanishi 等^[16]对头颈部鳞状细胞癌组织进行免疫组织化学研究发现, dysadherin 染色分布在癌细胞的细胞膜上, 主要是癌细胞间细胞边界处以及低分化肿瘤中。Muramatsu 等^[17]对头颈部鳞癌放疗后患者 dysadherin 与完全缓解率分析显示, 癌组织低表达 (评分 0~1 分) 的患者放疗后完全缓解率为 70%, 而高表达 (评分 2 分) 为 38%, 二者比较差异有统计学意义。Nishizawa 等^[18]在甲状腺组织中研究发现, dysadherin 在正常甲状腺滤泡上皮中无表达, 在甲状腺乳头状癌及滤泡状癌中呈阳性表达, 未分化癌甲状腺和皮肤黑色素瘤呈强阳性表达。Batistatou 等^[19]对甲状腺乳头状微小癌和乳头状癌研究发现, dysadherin 与 E-钙黏蛋白表达呈负相关, 与肿瘤大小无关。因此, dysadherin 检测有利于头颈部肿瘤诊断及预后判断。

3.2 FXYD5 (dysadherin) 与非小细胞肺癌 研究发现, 在原发性肺癌及其转移组织进行免疫组织化学分析, dysadherin 及 E-钙黏蛋白表达与肿瘤远处转移、高肿瘤分级和浸润性生长等恶性特征相关。Tamura 等^[20]对 131 例非小细胞肺癌患者进行研究, dysadherin 阳性表达的是与非小细胞肺癌患者生存的独立预后因素, 联合 dysadherin 和 E-cadherin 表达的免疫组化分析, 有助于评估预后。Ono 等^[21]对 107 例 I 期非小细胞肺癌患者免疫组化分析显示, 70% 肺癌组织 E-钙黏蛋白低表达, 29% 为 dysadherin 强阳性表达, 前者高表达与后者低表达的患者呈现不良预后。并且发现, dysadherin 及细胞角蛋白 cytokeratin 过表达与患者生存率显著负相关, 认为肿瘤中检测其二者可作为评估 I 期非小细胞肺癌术后预后的一个重要指标。

3.3 FXYD5 (dysadherin) 与乳腺癌 Nam 等^[6]发现, dysadherin 在雌激素受体 (ER) 阴性的乳腺癌细胞株及组织中过表达, 并激活 NF- κ B 通路调控 CCL2 促进癌细胞侵袭和转移。Batistatou 等^[22]研究 70 例浸润性乳腺导管癌及 30 例浸润性乳腺小叶癌后得出, dysadherin 可以作为检测乳腺癌侵袭力的一个指标。Lee 等^[13]在乳腺癌组织中免疫组化研究发现其表达与磷酸化 Akt 表达升高呈高度相关。将该基因转染到乳腺癌细胞株 BT-474、MCF-7 及 T-47D, 均增强 Akt 磷酸化水平; 细胞株 MDA-MB-231 和 Hs578T 中敲除该基因后会抑制 Akt 磷酸化; Akt 抑制剂曲西立滨能抑制其介导的促转移作用, 包括 EMT、细胞运动力增强及耐药性。上述结果表明, dysadherin 通过 Akt 途径的活化可能促进乳腺癌的进展。

3.4 FXYD5 (dysadherin) 与肝癌 Kalluri 等^[14]发现, dysad-

herin 能赋予肝癌细胞以干细胞样细胞的性能, 实现 EMT, 促进肿瘤形成。肝癌细胞株中转染 dysadherin cDNA 后, ABCB1 基因表达增加从而提高干细胞样功能, 促进肝癌细胞增殖、提高体内肿瘤形成及抗凋亡能力, 使干细胞标记物 (CD133、CD90、CK19 等) 表达增多; 而在细胞株 SK/Hep1 中敲除该基因能抑制肿瘤形成, 减少 ABCB1 基因表达。上述结果提示, FXYD5 是肝细胞性肝癌预后的一个分子标志, 将其作为靶点进行敲除有望成为肿瘤的一种治疗手段。

3.5 FXYD5 (dysadherin) 与胃癌 Liang 等^[23]对胃肠道间质瘤进行 RT-PCR 及免疫组化分析发现, dysadherin 表达水平与肿瘤分级显著相关, dysadherin 引起 E-cadherin 下调, 是胃肠道间质瘤复发和转移的原因之一, dysadherin 蛋白检测可作为评估肿瘤预后的有效手段。Maehata 等^[24]对 318 例黏膜下侵袭的分化型胃癌 (DGCG) 免疫组化研究发现, 同时有 dysadherin 阳性表达 (>50%) 及 E-钙黏蛋白阴性表达 (<50%) 的肿瘤中低分化比例更高, 黏膜下浸润更深, 淋巴转移可能性更大, 可用于预测分化型胃癌的侵略程度。

3.6 FXYD5 (dysadherin) 与肾癌 研究显示^[25], 肾癌容易发生骨转移, 将肾癌细胞株 A-498 置于含有成骨细胞的培养基中, 细胞迁移增多, 肾癌细胞分泌大量 CCL2; 敲除了 dysadherin 基因片段的细胞株在含有成骨细胞的培养基中, 细胞迁移力下降, CCL2 蛋白表达量下降 2 倍。成骨细胞介导的 CCL2 分泌是肾癌骨转移的机制之一。表明肾癌细胞中二者蛋白表达可能是促进细胞迁移的内部因素。dysadherin 极有可能影响 CCL2 蛋白分泌水平, 进而影响肿瘤的转移。

参考文献:

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Ino Y, Gotoh M, Sakamoto M, et al. Dysadherin, a cancer-associated cell membrane glycoprotein, down-regulates E-cadherin and promotes metastasis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(3): 365-370.
- [3] Hirohashi S. FXYD5 (FXYD domain containing ion transport regulator 5) [J]. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*, 2009, 13(6): 413-414.
- [4] Lubarski I, Karlish SJ, Garty H. Structural and functional interactions between FXYD5 and the Na⁺-K⁺-ATPase [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 293(6): 1818-1826.
- [5] Subramaniam MM, Navarro S, Llombart-Bosch A. Immunohistochemical study of correlation between histologic subtype and expression of epithelial-mesenchymal transition-related proteins in synovial sarcomas[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2011, 135(8): 1001-1009.
- [6] Nam JS, Hirohashi S, Wakefield LM. Dysadherin; a new player in cancer progression [J]. *Cancer Lett*, 2007, 255(2): 161-169.
- [7] Ugurel S, Utikal J, Becker JC. Tumor biomarkers in melanoma [J]. *Cancer Control*, 2009, 16(3): 219-224.
- [8] Lubarski I, Pihakaski-Maunsbach K, Karlish SJ, et al. Interaction with the Na, K-ATPase and tissue distribution of FXYD5 (related to ion channel) [J]. *J Biol Chem*, 2005,

280(45):37717-37724.

- [9] Miller TJ, Davis PB. S163 is critical for FXVD5 modulation of wound healing in airway epithelial cells[J]. *Wound Repair Regen*, 2008, 16(6):791-799.
- [10] Tsuiji H, Takasaki S, Sakamoto M, et al. Aberrant O-glycosylation inhibits stable expression of dysadherin, a carcinoma-associated antigen, and facilitates cell-cell adhesion[J]. *Glycobiology*, 2003, 13(7):521-527.
- [11] Nam JS, Kang MJ, Suchar AM, et al. Chemokine(C-C motif) ligand 2 mediates the prometastatic effect of dysadherin in human breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(14):7176-7184.
- [12] Izhak L, Wildbaum G, Jung S, et al. Dissecting the autocrine and paracrine roles of the CCR2-CCL2 axis in tumor survival and angiogenesis[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1):28-30.
- [13] Lee YK, Lee SY, Park JR, et al. Dysadherin expression promotes the motility and survival of human breast cancer cells by Akt activation[J]. *Cancer Sci*, 2012, 21(1):56-58.
- [14] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6):1420-1428.
- [15] Park JR, Kim RJ, Lee YK, et al. Dysadherin can enhance tumorigenesis by conferring properties of stem-like cells to hepatocellular carcinoma cells[J]. *J Hep*, 2011, 54(1):122-131.
- [16] Nakanishi Y, Akimoto S, Sato Y, et al. Prognostic significance of dysadherin expression in tongue cancer; immunohistochemical analysis of 91 cases[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2004, 12(4):323-328.
- [17] Muramatsu H, Akimoto T, Maebayashi K, et al. Prognostic significance of dysadherin and E-cadherin expression in patients with head and neck cancer treated by radiation therapy[J]. *Anticancer Res*, 2008, 28(16):3859-3864.
- [18] Nishizawa A, Nakanishi Y, Yoshimura K, et al. Clinicopathologic significance of dysadherin expression in cutaneous malignant melanoma: immunohistochemical analysis of 115 patients[J]. *Cancer*, 2005, 103(8):1693-1700.
- [19] Batistatou A, Charalabopoulos K, Nakanishi Y, et al. Differential expression of dysadherin in papillary thyroid carcinoma and microcarcinoma: correlation with E-cadherin[J]. *Endocr Pathol*, 2008, 19(3):197-202.
- [20] Tamura M, Ohta Y, Tsunezuka Y, et al. Prognostic significance of dysadherin expression in patients with non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 130(3):740-745.
- [21] Ono K, Uramoto H, Hanagiri T. Expression of dysadherin and cytokeratin as prognostic indicators of disease-free survival in patients with stage I NSCLC[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(19):3273-3278.
- [22] Batistatou A, Peschos D, Tsanou H, et al. In breast carcinoma dysadherin expression is correlated with invasiveness but not with E-cadherin[J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(9):1404-1408.
- [23] Liang JF, Zheng HX, Xiao H, et al. Dysadherin expression in gastrointestinal stromal tumors (GISTs) [J]. *Pathol Res Pract*, 2009, 205(7):445-450.
- [24] Maehata Y, Hirahashi M, Aishima S, et al. Significance of dysadherin and E-cadherin expression in differentiated-type gastric carcinoma with submucosal invasion [J]. *Hum Pathol*, 2011, 42(4):558-567.
- [25] Schuler Y, Lee-Thedieck C, Geiger K, et al. Osteoblast-secreted factors enhance the expression of dysadherin and CCL2-dependent migration of renal carcinoma cells[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(2):288-299.

(收稿日期:2012-12-08 修回日期:2013-02-22)

· 综 述 ·

SGLT2 抑制剂治疗 2 型糖尿病的研究进展

刘文曲 综述,汪志红[△]审校

(重庆医科大学附属第一医院内分泌科 400016)

关键词: 钠-葡萄糖协同转运蛋白; 抑制剂; 糖尿病, 2 型

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.17.040

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)17-2024-04

随着糖尿病患病率的迅猛增加和控制达标率的不满意,糖尿病的治疗引起广泛关注。传统口服降血糖药物的作用机制多样,但目前上市的药物中没有一种药物是通过增加葡萄糖的排泄从而达到降血糖作用的。肾脏在人体代谢平衡的维持及血糖的调控中起着重要的作用。在健康成人中,每天大约有 180 g 的葡萄糖从肾小球滤过,大于 99% 的葡萄糖从肾小管重吸收。钠-葡萄糖协同转运蛋白(sodium glucose co-transport-

ers, SGLTs)负责葡萄糖的重吸收。其中, SGLT2 完成 90% 葡萄糖重吸收的转运,而 SGLT1 完成剩下的 10%^[1]。因此,抑制 SGLT2 的活性,增加肾脏对葡萄糖的排泄,成为开发抗糖尿病药物的新靶点。

1 SGLTs 的生物学特性和功能

葡萄糖为大分子物质,在生物体内不能自由通过细胞膜脂质双分子层,需要细胞膜上葡萄糖转运蛋白的协助。研究表