

cagA 与胃癌发生的关系

刘红强 综述,朱明才 审校
(重庆医科大学附属第一医院胃肠外科 400016)

关键词:螺杆菌,幽门; 细胞毒素类; 蛋白质酪氨酸磷酸酶类; 胃肿瘤
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.02.044 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2011)02-0232-03

细胞毒素相关蛋白 A(cagA)与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌等疾病均有密切关系,本文将对 cagA 与胃癌发生的关系相关研究进展进行综述。

1 细胞相关毒素 A(cagA)

cagA 存在于幽门螺杆菌(HP)高毒力株中,本质是一种免疫显性抗原,其编码的 CagA 蛋白是一种亲水性强的、暴露于菌体表面的外膜蛋白,而自身不具有毒性。cagA 以 HP 作为载体,在宿主感染高毒力株 HP 的同时,cagA 随之被注入到胃的上皮细胞后发生磷酸化,并同时与蛋白酪氨酸激酶(Src)发生相互作用,并随后由生长因子诱导其发生形态学改变(被称为蜂鸟表型^[1])。而蛋白酪氨酸磷酸酶^[2](SHP-2)、C 末端 Src 激酶(Csk)可通过 Src 同源结构域 2(SH2)有选择性的结合酪氨酸磷酸化的 cagA,并靠这个复杂的结构调低 Src 家族的蛋白酪氨酸激酶活性,借此以抑制 cagA 磷酸化,并抑制随后催生的蜂鸟表型。

2 cagA 与胃癌发生的关系

2.1 虽然目前 cagA 诱导胃癌发生的机制仍不明确。cagA 阳性的 HP 细胞株对胃癌的作用机制可能包括影响细胞骨架的重排,抑制凋亡,损伤上皮细胞 DNA,增加原癌基因 c-fos 和前列腺素 E2 的表达^[3]等。但从形态学上看,肠上皮化生已被公认为胃的特征性癌前病变,它是胃粘膜从形态上分化转移为肠上皮的表現型。CagA 蛋白进入胃上皮细胞后,在 Src 家族激酶的作用下发生酪氨酸磷酸化,磷酸化后的 cagA(特别是结合活性 SHP-2 磷酸酶的 cagA)能诱导细胞形态学的转变。Higashi 等^[4]通过对 CagA 蛋白的研究发现 CagA 蛋白(特别是野生型的 cagA,除了抗 cagA 磷酸化型)与严重的胃炎和胃癌有密切的关系,通过在宿主细胞内发生酪氨酸磷酸化被激活后诱导上皮细胞发生生长因子样的反应,从而诱导胃上皮细胞发生异常增殖和形态学上的变化。在 Tsutsumi 等^[5]的实验中还指出 CagA-Csk 之间的相互作用阻止了 cagA 的大量表达。SHP-2 的信号不仅能竞争性地影响 cagA,其复杂的结构还降低了 cagA 磷酸化的水平,通过 Csk 对 cagA 活性的下调可以使 cagA 阳性的 HP 出现对人类胃的多年反复感染而避开了过量的 cagA 对宿主带来的毒性作用。

cagA 在结构上的多态性也与其诱导病变发生的机制有关,Sicinschi 等^[6]发现 HP 的 CagA 蛋白序列中 C 末端据有不同的 EPIYA 序列^[7](EPIYA 基序为谷氨酸-脯氨酸-异亮氨酸-酪氨酸-丙氨酸序列)(EPIYA-A,B,C,D),以及其间发生 1 个或多个 cagA 的多聚化,其中 EPIYA-C 序列与胃癌和癌前病变的损伤有着密切联系。Suzuki 等^[8]还报道了 cagA 的 C 末端结构域中一个保守基序,这个基序是已明确的被用于磷酸化的 EPIYA 基序,同时在对 cagA 的非磷酸化形式的功能研究中指出 cagA 中 CRPIA(负责保守重复与磷酸化无关的活动)

在 HP 致病机制中的关键作用。而 Argent 等^[9]还发现西欧型与东亚型的 cagA 的酪氨酸磷酸化中发现东亚型 cagA 明显诱导更多的白介素-8 的分泌。

Hatakeyama^[10]认为 cagA 经细菌的 IV 型分泌系统(TFSS)进入胃上皮细胞后,通过上调 SHP-2 磷酸酶的活性以诱发恶性肿瘤。Murata-Kamiya 等^[11]还认为通过 TFSS 的传导,幽门螺杆菌 cagA 能干扰宿主细胞的信号,并从而促进胃癌的发生。

2.2 cagA 与其他因素的相互影响 Murata-Kamiya 等^[12]认为经 cagA 干扰的 E-cadherin/ β -catenin 的复合物在肠上皮化生中起重要作用,这是一个胃上皮细胞恶性分化转移为肠上皮细胞的胃腺癌前病变的过程。Weydig 等^[13]进一步分析了 E-cadherin 介导的细胞粘着因子的解体,表明了缺少 E 钙蛋白的细胞与细胞的接触是完全独立于 cagA 的。他们还总结出 β -catenin 作为许多肿瘤的标志物,其所介导的转录在 HP 感染上皮细胞的阶段是没有被激活的,研究表明 HP 诱导的发病机制是一个由 cagA 独立启动的多步骤及多因素的过程,其包括了水解 E-cadherin 及通过 α 粘蛋白的干扰和与之结合,导致肌动蛋白细胞骨架上的 E-cadherin、 β -cateni 及 P120 粘蛋白 3 者间复杂关系的破坏和解离,导致受 HP 感染细胞去极化和上皮细胞迁移,提高了 cagA 的致病作用。Oliveira 等^[14]在其后的研究也认为 cagA 能改变 E-cadherin-catenin 的复合体,其能废除 C-蛋氨酸和 P120- catenin 的酪氨酸磷酸化。俞慧宏等^[15]认为钙粘蛋白在正常组织中表达,而在胃癌组织中减少或缺乏,其表达水平与胃癌分化程度呈正相关,而与胃癌的侵袭及转移呈负相关并可用于判断胃癌患者的预后。

Saadat 等^[16]研究发现,在上皮细胞极性中起关键作用的 PAR1/MAR 激酶是 HP 的 cagA 分解胃上皮结构的一个关键目标,随后导致基底粘膜的损伤,形成炎症和癌变。

Basso 等^[17]在对与临床相关的 HP 中 cagA 与 vacA 多态性的研究中,分析了 203 例感染 HP 的受试者,其中胃癌患者 53 例,消化道溃疡患者 52 例,胃炎患者 98 例。实验发现 cagA 阳性菌株与胃癌和消化性溃疡有显著的相关性($P<0.001$ 和 $P<0.05$),胃癌的危险程度与 cagA 中 EPIYA-C 段的数量呈正相关[优势比(OR)= 7.37,1 段 EPIYA-C 的 95%的可信区间(CI)为 1.98~27.48;2 段或以上 EPIYA-C 的 OR=32.5,95%CI 为 8.41~125.58],随着 EPIYA-C 段数量的增加同时也增加了肠上皮化生的危险性。S1 型和 i1 型 vacA 这对等位基因同样也与胃癌有着联系,同时 i1 型 vacA 还与包括十二指肠溃疡在内的消化性溃疡有关(OR=2.58,95%CI 为 1.19~5.61)。在多变量分析中,cagA 中 EPIYA-C 段的数量与胃癌和肠上皮化生的联系以及 vacA 中 i1 型与消化性溃疡的联系仍然存在。通过这个分析,他们肯定了 cagA 与 vacA 的多态

性与疾病的联系,但不能现在确定其最重要的特征。在西方人群中癌症最重要的风险是 *cagA* 中 EPIYA-C 段的数量,而消化性溃疡则是 *vacA* 的中间区型。Argent 等^[18]在研究 HP 毒力因素中 *cagA* 与 *vacA* 的功能的联系时,发现上皮细胞中潜在的野生型 HP 能同时呈现出空泡和蜂鸟的形成,同时亦发现:(1)与没有空泡的细胞相比,蜂鸟长度显著减少了空泡细胞的形成;(2)与没有蜂鸟型的细胞相比,有蜂鸟形成的空泡细胞中空泡的数量也显著降低了;(3)在大量空泡形成的细胞中,则没有蜂鸟的形成,反之亦然。*VacA* 并不影响 *cagA* 的磷酸化。他们从数据中得出 *vacA* 与 *cagA* 下调彼此对上皮细胞的影响,潜在的使 HP 在与细胞相互作用的同时,避免了细胞组织的过度损伤。之后,Oldani 等^[19]在试验中也发现 *cagA* 与 *VacA* 的联合对人类宿主是一种非常不利的影响。

P53 基因作为人类肿瘤相关性最高的基因,其编码产物分为野生型与突变型,野生型 P53 蛋白在维持细胞正常生长、抑制细胞癌变过程中起重要作用。杨丽等^[20],发现突变型 P53 蛋白由于半衰期延长而大量累计于细胞核中,在恶性肿瘤患者血清中突变型 P53 抗体阳性率明显高于良性疾病或健康人群。André 等^[21]的研究还表明 HP 中 *cagA* 阳性种群有助于 P53 的改变,并指出伴随基因的失活和 P27 表达的下调可能是 HP 能促进发展和胃癌进程的一种机制。

2.3 *cagA* 在临床上与胃癌的分析 Fantry 等^[22]运用携带 *cagA* 基因的 HP 来检测混合感染实验,因为它只在高毒力菌株中存在,而且它的存在已经确定和溃疡有关。聚合酶链反应(PCR)对 *cagA* 基因检测被应用到幽门螺旋杆菌菌株和内镜取出的胃液。利用个别细菌的克隆来检验随机引物扩增的 PCR 产物与运用限制性内切酶后的尿素酶基因的 PCR 产物的遗传相似性。通过这个实验,发现混合次代菌株感染的理论对 HP 也实用,并可能导致不同的临床结果。

而在临床上,*cagA* 也并非是诊断胃癌的充分条件。Mansour-Ghanaei 等^[23]在一个胃癌发生率较高的地区,通过比较抗 *cagA* 抗体对非贲门胃癌与非溃疡性消化不良的影响,发现在 52 个胃癌患者中抗 HP 抗体阴性的有 13 个(25%),阳性的有 39 个(75%);在 57 个非溃疡性胃消化不良患者中抗 HP 抗体阴性的有 5 个(8.5%),阳性的有 52 个(91.2%)($P=0.043$),这个显著的差异经过 logistic 回归后仍然不能作为评价其影响因子的标准($P=0.068$)。在抗 *cagA* 抗体阳性中有 22(42.3%)个胃癌患者,另外有 32 个非溃疡性消化不良患者(56.1%),这个关系在 logistic 回归分析前($P=0.212$)和分析后($P=0.131$)没有差异。故得出结论在胃腺癌中,抗 *cagA* 抗体在作为预先独立评价胃腺癌因素中不具有重要的价值。

2 展 望

现在诸多研究表明 HP 中 *cagA* 阳性基因型与胃炎、胃十二指肠溃疡及胃腺癌有着密不可分的关系。Backert 等^[24]也认为 *CagA* 蛋白通过劫持细胞信号通路,不仅使肌动蛋白细胞骨架重排、细胞之间连接中断等,而且还引起增生、亲抗炎及抗凋亡等反应。Handa 等^[25]将 *CagA* 蛋白作为重点,把其看做是 HP 的重要致病因素之一。通过针状结构,HP 将 *cagA* 注入到宿主的胃上皮细胞中,这种方式被称为 IV 型分泌系统(TFSS)。被注入的 *cagA* 能劫持生理信号转导并通过不同的机制引起细胞的病理学反应,例如促进细胞增殖,迁移,凋亡以及形态学上的改变。幽门螺旋杆菌已被证实其能在受感染的胃黏膜中产生活性氧(ROS),虽然活性氧生产的主要来源可能是宿主的中性粒细胞,他们在这次的报告中提议新颖的 ROS

生产源头:*CagA* 蛋白本身可以诱导胃上皮细胞产生 ROS。胃上皮细胞产生过多的活性氧可导致 DNA 损伤,从而可能参与胃癌的发生。了解 HP 引起的癌变的分子机制对胃癌发展的新阶段是非常重要的。*cagA* 基因通过 HP 携带进入胃上皮细胞粘膜后,通过酪氨酸磷酸化和以独特的方式结合并激活 SHP2 肿瘤蛋白,从而诱导细胞伸长为叫做“蜂鸟”表型的形态,以及 *cagA* 与 HP 中其他毒力因素,如 *vacA* 等,的相互影响和对组织细胞的作用的影响。而目前对于 HP 的 *cagA* 基因型携带者在临床上引起不同临床表现的原因是有待解决的一个难题。需要通过更多的临床病例分析及临床试验来对不同临床表现的 *cagA* 基因型 HP 感染者进行分析研究,以更好的预防和治疗胃癌。

参考文献

- [1] Segal ED, Cha J, Lo J, et al. Altered states: Involvement of phosphorylated *cagA* in the induction of host cellular growth changes by *Helicobacter pylori* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(25):14559-14564.
- [2] Feng GS. Shp-2 Tyrosine Phosphatase: Signaling One Cell or Many [J]. Experimental Cell Research, 1999, 11(25):47-54.
- [3] Asahi M, Azuma T, Ito S, et al. *Helicobacter pylori cagA* protein can be tyrosine phosphorylated in gastric epithelial cells [J]. J Exp Med, 2000, 191(4):593-602.
- [4] Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, et al. SHP-2 Tyrosine Phosphatase as an Intracellular Target of *Helicobacter pylori cagA* Protein [J]. Science, 2002, 1(25):683 - 686.
- [5] Tsutsumi R, Higashi H, Higuchi M, et al. Attenuation of *Helicobacter pylori cagA* x SHP-2 signaling by interaction between *cagA* and C-terminal Src kinase [J]. J Biol Chem, 2003, 278(6):3664-3670.
- [6] Sicinschi LA, Correa P, Peek RM, et al. *cagA* C-terminal variations in *Helicobacter pylori* strains from Colombian patients with gastric precancerous lesions [J]. Clin Microbiol Infect, 2009, 5(15):369-378.
- [7] Higashi H, Yokoyama K, Fujii Y, et al. EPIYA motif is a membrane-targeting signal of *Helicobacter pylori* virulence factor *cagA* in mammalian cells [J]. J Biol Chem, 2005, 280(24):23130-23137.
- [8] Suzuki M, Mimuro H, Kiga K, et al. *Helicobacter pylori cagA* Phosphorylation-Independent Function in Epithelial Proliferation and Inflammation [J]. Cell Host and Microbe, 2009, 1(22):23-34.
- [9] Argent RH, Hale JL, El-Omar EM, et al. Differences in *Helicobacter pylori cagA* tyrosine phosphorylation motif patterns between western and East Asian strains, and influences on interleukin-8 secretion [J]. J Med Microbiol, 2008, 57(Pt 9):1062-1067.
- [10] Hatakeyama M. Linking epithelial polarity and carcinogenesis by multitasking *Helicobacter pylori* virulence factor *cagA* [J]. Oncogene, 2008, 27(55):7047-7054.
- [11] Murata-Kamiya N, Kikuchi K, Hayashi T, et al. *Helicobacter pylori* exploits host membrane phosphatidylserine for delivery, localization, and pathophysiological action of the *cagA* oncoprotein [J]. Cell Host Microbe, 2010, 7(5):399-411.
- [12] Murata-Kamiya N, Kurashima Y, Teishikata Y, et al. *Helicobacter pylori cagA* interacts with E-cadherin and deregulates the β -catenin signal that promotes intestinal transdifferentiation in gastric epithelial cells [J]. Oncogene, 2007, 26(32):4617-4626.
- [13] Weydig C, Starzinski-Powitz A, Carra G, et al. *cagA*-independent disruption of adherence junction complexes involves E-cadherin

shedding and implies multiple steps in *Helicobacter pylori* pathogenicity[J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(16):3459-3471.

[14] Oliveira MJ, Costa AM, Costa AC, et al. *cagA* associates with c-Met, E-cadherin, and p120-catenin in a multiproteic complex that suppresses *Helicobacter pylori*-induced cell-invasive phenotype[J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(5):745-755.

[15] 俞慧宏, 吴小翎. 上皮钙粘蛋白与胃癌[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(3):232-234.

[16] Saadat I, Higashi H, Obuse C, et al. *Helicobacter pylori cagA* targets PAR1/MARK kinase to disrupt epithelial cell polarity[J]. *Nature*, 2007, 447(7142):330-333.

[17] Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori cagA* and *vacA* gene polymorphisms[J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(1):91-99.

[18] Argent RH, Thomas RJ, Letley DP, et al. Functional association between the *Helicobacter pylori* virulence factors *VacA* and *cagA* [J]. *J Med Microbiol*, 2008, 57(Pt 2):145-150.

[19] Oldani A, Cormont M, Hofman V, et al. *Helicobacter pylori* counteracts the apoptotic action of its *VacA* toxin by injecting the *cagA* protein into gastric epithelial cells[J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(10):1-13.

[20] 杨丽, 雷鸣, 胡黎娅, 等. 恶性肿瘤患者血清 P53 抗体检测及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(6):503-504, 506.

[21] André AR, Ferreira MV, Mota RM, et al. Gastric adenocarcinoma and *Helicobacter pylori*: Correlation with p53 mutation and p27 immunoexpression[J]. *Cancer Epidemiol*, 2010, 34(5):618-625.

[22] Fantry GT, Zheng QX, Darwin PE, et al. Mixed Infection with *cagA*-Positive and *cagA*-Negative Strains of *Helicobacter pylori*[J]. *Helicobacter*, 2007, 2(22):98-106.

[23] Mansour-Ghanaei F, Abbasi R, Joukar F, et al. Anti *cagA* antibody among patients with non-cardia gastric cancer in comparison with non-ulcer dyspepsia in an area with high incidence of gastric cancer[J]. *Saudi Med J*, 2008, 11(29):1606-1610.

[24] Backert S, Tegtmeyer N, Selbach M. The versatility of *Helicobacter pylori cagA* effector protein functions: The master key hypothesis[J]. *Helicobacter*, 2010, 15(3):163-176.

[25] Handa O, Naito Y, Yoshikawa T, et al. *cagA* protein of *Helicobacter pylori*: a hijacker of gastric epithelial cell signaling[J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73(11):1697-1702.

(收稿日期:2010-05-12)

• 综 述 •

树突状细胞与慢性乙型肝炎

徐 菲, 董 林 综述, 张瑞生[△] 审校

(南京医科大学附属南京第一医院检验科 210000)

关键词: 树突细胞; 肝炎病毒, 乙型; 肝炎, 乙型, 慢性; 疫苗

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 02. 045

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)02-0234-03

树突状细胞在是机体免疫系统中的重要细胞成分,在细胞免疫和体液免疫中均具有重要作用。本文将对树突状细胞与慢性乙型肝炎的关系相关研究进展进行综述。

1 树突状细胞(DC)

DC 起源于骨髓,由美国学者 Steinman 和 Cohn 于 1973 年首先发现,因其成熟时具有特殊的树突样突起而得名。它是目前所知的功能最强的专职抗原提呈细胞,也是唯一能够激活初始 T 淋巴细胞的抗原提呈细胞。成熟的 DC 从细胞胞体的四周伸出约 10 μm 的突起,并具有活跃的运动能力,无或仅有微弱的吞噬功能,对玻璃或塑料缺乏持久的粘附能力。

DC 细胞能表达与抗原递呈有关的分子, (1)MHC I 类 II 类分子,如 HLA-DP、DQ、DR、HLA-A、B、C 等; (2)多种共刺激分子:如 CD80、CD86、CD58、CD54、CD50 及 CD40,这些分子介导 DC 与 T 细胞的结合,并具有共刺激的功能; (3)表达 CD123、CD83、CD1a、CD11c,不表达 CD14 分子,缺乏或低表达 FC 受体,缺乏髓过氧化物酶和溶菌酶,而非特异酯酶阴性。因此上述特征表明 DC 在分化过程中丧失了许多吞噬细胞所具有的功能,而且有高水平 MHC 分子和共刺激分子的表达,成为一种能有效将抗原递呈给 T 细胞的独立的类型。

根据表型功能不同分为两类,即髓样树突状细胞(myeloid DC, mDC)和淋巴样树突状细胞(lymphoid DC, pDC)。 (1) mDC,是体内主要的抗原递呈细胞。一般认为, mDC 其表面标

志为 Lin⁻ HLA-DR⁺ CD4⁺ CD11c⁺, 主要发挥抗原递呈作用,并分泌 IL-12,作用于 Th0 使之向 Th1 型细胞分化; (2) pDC,也称干扰素产生细胞(IPDC3),其表面标志为 Lin⁺ HLA-DR⁺ CD4⁺ CD123⁺,具有较弱的抗原递呈功能,并分泌 IL-4,作用于 Th0 使之向 Th2 分化^[1]。在病毒感染时产生大量 I 型干扰素发挥以下作用:①直接抗病毒;②活化 NK、NKT、mDC 等免疫细胞、诱导特异性 T 细胞和 B 细胞的生成,在慢性病毒感染时 pDC 能分化成熟为 APC,直接诱导 T 细胞分化,引导免疫反应。

DC 的功能: (1)抗原摄取:未成熟的 DC 在接触抗原后捕获抗原,并将抗原输送到细胞内酸性液胞区; (2)加工:将抗原加工成短肽转运到细胞内 MHC I、II 类分子富集区与 MHC I、II 类分子形成 MHC 复合物,并表达于细胞表面; (3)递呈:DC 入血、迁徙到外周淋巴器官的 T 细胞聚集区,将其表面丰富表达的 MHC 分子上的肽类抗原递呈给 T 细胞; (4) T 细胞识别后即启动 MHC I 类限制性细胞毒性 T 细胞, MHC II 类限制性 T 辅助细胞,共同形成免疫应答, DC 还高水平的表达一系列共刺激分子如 CD80、CD86、CD40 等,他们介导 DC 与 T 细胞的结合。

DC 除了免疫激活作用还能诱导免疫耐受^[2]。 DC 是在胸腺内对发育中 T 细胞进行阴性选择的最重要细胞,通过排除自身反应性 T 细胞克隆,参与中枢免疫耐受的诱导。血循环

[△] 通讯作者, E-mail: 18951670326@189. com。