

Med Oncol, 2010, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20509007>.

[28] Sidhu SS, Nawroth R, Retz M, et al. EMMPRIN regulates the canonical Wnt/beta-catenin signaling pathway, a potential role in accelerating lung tumorigenesis[J]. Oncogene, 2010, 29(29): 4145-4156.

[29] Gu J, Zhang C, Chen R, et al. Clinical implications and prognostic value of EMMPRIN/CD147 and MMP2 expression in pediatric gliomas[J]. Eur J Pediatr, 2009, 168(6): 705-710.

[30] Bougateg F, Menashi S, Khayati F, et al. EMMPRIN promotes melanoma cells malignant properties through a HIF-2alpha mediated up-regulation of VEGF-receptor-2[J]. PLoS One, 2010, 5(8): e12265.

[31] de Vries JF, Te Marvelde JG, Wind HK, et al. The potential use of basigin (CD147) as a prognostic marker in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2010, 150(5): 624-626.

[32] Pinheiro C, Longatto-Filho A, Pereira SM, et al. Monocarboxylate transporters 1 and 4 are associated with CD147 in cervical carcinoma[J]. Dis Markers, 2009, 26(3): 97-103.

(收稿日期: 2010-05-04)

• 综 述 •

连接蛋白及间隙连接细胞间通讯在肝癌中的研究进展

廖 伟 综述, 李生伟 审校

(重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 400010)

关键词: 连接蛋白类; 细胞外隙; 肝肿瘤

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.02.036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)02-0214-03

连接蛋白(Cx)及间隙连接细胞间通讯(GJIC)在肝癌的发生、转移、治疗等方面具有十分重要的作用。现就 Cx 与 GJIC 在肝癌中的研究进展进行综述。

1 连接蛋白与细胞间隙连接通讯

Cx 又称连接子,是组成间隙连接(GJ)的基础,而 GJ 的存在是 GJIC 发挥功能的前提。Cx 是镶嵌在细胞膜上的大分子蛋白,为 6 个亚单位组成的六聚体,并与相邻细胞膜上的 Cx 相互衔接形成亲水性膜通道,构成 GJ。Cx 按功能可分为 2 类,即 GJIC 非依赖型和 GJIC 依赖型,前者以 Cx 单体在细胞内发挥作用,后者通过 GJIC 使 2 个或多个细胞(相同或不同类型细胞)相互联系而发挥作用。GJIC 按其功能也可分 2 类,即同型细胞间隙连接(HomoGJIC)和异型细胞间隙连接(HeterGJIC),其中 HomaGJIC 指相同细胞(如同类肿瘤细胞或者同类正常细胞)间形成的 GJIC, HeterGJIC 指不同类型细胞(如肿瘤细胞和正常细胞之间,或不同正常组织细胞)间形成的 GJIC。GJ 通道只允许相对分子质量小于 1 000 的分子和粒子通过,如 Ca²⁺、cAMP、肌醇三磷酸等^[1-2]。

已确认的人 Cx 家族成员超过 20 个,其表达和分布具有组织特异性^[3-4]。在肝脏组织中,GJIC 主要涉及 3 种 Cx,即 Cx26、Cx32 和 Cx43,其分布主要与细胞类型及肝小叶上细胞位置有关。体内、外研究发现,正常肝细胞主要表达 Cx32(约占 90%)以及 Cx26^[5-6],其在相邻细胞接触区域共同构成 GJ^[7]。在肝癌细胞株中,Cx26 未见表达,而 Cx32 虽然有表达,但通常位于细胞质中,属于混乱表达^[8];肝癌细胞中表达量较多的 Cx43 也主要位于胞质中,少部分位于胞膜上非相邻细胞共同接触区域,也属混乱表达^[5-6]。

GJIC 在维持内环境稳定中具有十分重要的作用,可通过相邻细胞的相互调控及物质交换促进细胞正常生长及分化,当其功能下调或丧失时导致多种疾病的发生,包括外周神经病、耳聋、掌跖角化病、夏科-马里-图恩病、板层粉状白内障等^[9-10]。GJIC 可抑制肿瘤生长,在肝脏肿瘤发生时 GJIC 功能不同程度地降低乃至丧失^[11-13]。在部分肿瘤中 GJIC 功能未见明显下降及丧失,但并不表明细胞间的通讯正常,有可能与 GJ 通透

性以及对信号敏感性降低有关^[14-15]。Ara 等^[6]的研究显示,GJIC 维持正常功能至少需要满足 3 个条件,即 Cx 表达正常;Cx 可通过高尔基体正常转运至位于相邻细胞接触共同区域的胞膜上并参与 GJIC 的构建,也就是可正确定位并形成细胞内通道,这与 Cx 蛋白自身磷酸化有关;相邻细胞膜的通道可正确对接,形成细胞间通道。

2 Cx、GJIC 与肝癌的关系

2.1 Cx、GJIC 与肝癌的发生 Cx 表达异常、GJIC 功能降低或丧失均与肝癌的发生密切相关。当 GJIC 功能下降或者丧失时,恶变细胞脱离周围正常细胞的调控,通过选择性生长、增殖及异常分化,最终形成肝癌。在肝癌发生的 3 个阶段中,引发阶段的 GJIC 功能仍正常;促癌变阶段的 GJIC 功能受抑,但仍是可逆的,促癌剂或抑癌剂可抑制或恢复 GJIC 功能,增殖阶段的 GJIC 功能完全被抑制或消失,且是不可逆的。故 GJIC 功能受抑被认为是促癌变阶段的重要机制,肿瘤细胞 GJIC 功能的缺陷与 Cx 表达降低或消失密切相关。因此,Cx 基因被认为是非突变型抑癌基因,多数 GJIC 功能异常归根到底仍是 Cx 表达及功能异常,甚至在肝炎、肝硬化以及肝外伤时,Cx 表达也明显降低^[16]。

Cx 异常可表现为:(1)Cx 基因突变及其表达异常。这种情况在人肝癌细胞中少见,但为在基因水平治疗肝癌提供可能,可通过转基因技术增加 Cx 基因含量及其表达,重塑和恢复 GJIC 功能,抑制肿瘤细胞分化及生长,从而达到治疗肿瘤的目的。Edwards 等通过转基因技术并以不同浓度的地塞米松诱导大鼠源性 MH1C1 肝癌细胞表达 Cx32,证实 Cx32 的表达量与癌细胞的抑制情况呈线性正相关,但在 Cx32 阈水平表达时未见癌细胞明显受抑,是否存在 Cx 发挥抑癌功能的表达阈水平尚待进一步研究^[17]。(2)参与构成 GJIC 的 Cx 表达减少。Sheen 等^[18]的研究发现,肝细胞癌中 Cx26 及 Cx32 mRNA 明显少于对照组,混乱表达于胞质内的 Cx43 mRNA 明显高于对照组,且低表达的 Cx26 和 Cx32 与肝细胞癌复发及复发死亡率密切相关。(3)Cx 定位异常。肝癌细胞高表达 Cx43,少量表达 Cx32,不表达 Cx26,但 Cx43 主要位于胞浆中,

不能有效参与构成 GJIC 以抑制肿瘤细胞生长及分化;也有研究指出,肝癌细胞胞浆中 Cx43 的表达与 GJIC 功能呈负相关,且 Cx32 表达水平及活性受 Cx43 表达水平的负性调节,说明表达并聚集于胞质内的 Cx43 是促进肝细胞癌变的重要因素,其机制可能与 Cx43 抑制 Cx32 表达从而降低 GJIC 功能有关^[19];但部分研究显示,在肝癌细胞中,Cx32 在胞质中仍可表达并聚集,不仅促进细胞进一步癌变,而且与肿瘤分化程度呈负相关,即 Cx32 在胞质中表达越多,肿瘤分化程度越低,恶性程度越高^[20]。Dagli 等^[10]采用肝细胞特异性清蛋白启动子构建 Cx32 在胞浆中呈显性负性突变体的转基因小鼠,得出相似结论,即转基因小鼠对化学致癌物敏感性明显提高,并在短期内出现肝内多发性肿瘤。④Cx 异常磷酸化及信号转导途径异常。主要发生在翻译后水平的 Cx 异常磷酸化与 Cx 的正确定位呈负相关。Cx 丝氨酸残基磷酸化可调节 GJ 通道的开闭及其功能,以磷酸丝氨酸抗体处理肝癌细胞后,胞膜上 Cx32 的含量可提高 90%。Ma 等^[21]的研究发现,GJIC 功能降低不仅与 Cx 异常磷酸化有关,也与 Cx 信号转导途径异常,如胞质内 Ca^{2+} 减少有关。也有研究发现,胞浆内 Ca^{2+} 浓度与 GJIC 功能重塑及恢复呈正相关,其抑制肿瘤的机制可能是破坏肿瘤细胞的正常增殖周期以及促进肿瘤细胞程序性凋亡^[22]。

目前多数研究致力于通过提高肝癌细胞中 Cx 的表达,重塑及恢复 GJIC 功能以达到治疗肝癌的目的。提高 Cx 表达的常用方法有基因转染及化学诱导法。基因转染法是将外源性 Cx cDNA 导入 GJIC 缺陷或/和低下的癌细胞并使其表达,产生 Cx 并形成功能性 GJ,从而恢复 GJIC 的功能;化学诱导法则是以化学物质,如糖皮质激素、雌激素、环腺苷酸、全反式维甲酸(ATRA)等诱导癌细胞表达 Cx。由于目前体内基因转染率低,而化学诱导法可作用于更多的靶细胞,因而后者具有更广阔的应用前景。

2.2 Cx、GJIC 与肝癌的转移 肝癌的转移是一个多因素、多步骤的过程,包括肿瘤细胞脱离原发灶进入循环系统,再游离至特定组织增殖形成转移灶,即侵袭、内渗、外渗及癌细胞在远端转移点增殖 4 个阶段。Cx 及 GJIC 在癌细胞转移中起着重要的作用。Cx 表达减少及 GJIC 功能消失可导致癌组织恶性程度增高,表现为高侵袭性及转移率。在癌组织转移的 4 个阶段中,最为重要的是内渗及外渗,由于涉及细胞与基质的相互作用,故 HeterGJIC 可能在发挥着重要作用。

Cx 及 GJIC 与参与肝癌转移的机制并未完全阐明。早期研究结果表明,GJIC 功能下调及丧失在导致肿瘤细胞异质性增加同时导致细胞间的离解,从而促进转移。故目前多数学者认为 Cx/GJIC 功能与肝癌转移性侵袭呈负相关。有研究通过脱氧土霉素诱导 Cx32 在无转移性的 HuH7 肝癌细胞胞浆中过量表达,发现其过量表达可诱导转移灶的出现,且 Cx32 的表达量与肝癌组织恶性程度呈正相关,说明正常肝细胞膜上的 Cx32 参与 GJIC 的构建并抑制肝细胞癌的发生,但肝细胞一旦获得恶性表型,胞浆中聚集的 Cx32 会促进肝细胞癌的发生及转移,其具体机制却尚未明了^[23]。Kawasaki 等在此基础上进一步研究发现,肝癌细胞胞浆中聚集的 Cx32 可因促进肝癌干细胞的自我更新、增殖从而使肝癌干细胞群不断膨胀^[24],而肝癌干细胞也可以产生大量的非癌干细胞,前者是癌细胞侵袭及转移的主要成分,后者是组成肝癌组织的主要成分^[25],均与肿瘤侵袭和转移有关。相关研究也证实癌干细胞群的大小决定着癌组织的侵袭及转移^[26-27]。

目前关于 Cx26、Cx32 及 Cx43 与肝癌发生及转移关系的

研究较多,但关于新的 Cx 的研究也不可忽视。以往的研究只关注某特定组织的个别 Cx,随着对某特定组织中多个 Cx 的并行研究不断的深入,人们发现不同的 Cx 在肿瘤转移的不同阶段发挥着不同作用,即使处在相同阶段,不同的 Cx 也发挥着不同的作用;而不同 GJIC 通透性的区别使其在肿瘤发生、转移中的作用也具有复杂多样性。要搞清其中的机制尚待进一步的研究。

2.3 Cx、GJIC 与肝癌的治疗 目前对于肝癌的治疗仍以手术结合放化疗为主,但中、晚期肝癌手术切除率低,且放化疗效果不甚理想。目前已有致力于通过提高肝癌细胞中 Cx 正确表达及定位,促进 GJIC 功能重塑及恢复的研究,这样即可利用 GJIC 自身的作用抑制甚至逆转癌细胞的生长,也可通过 GJIC 功能的恢复,使化疗药物同时作用于癌细胞及癌周细胞,从而增强药物的旁观效应,最终达到肝癌生物学治疗的目的,但此类研究尚在探索阶段。有研究利用 ATRA 增强自杀基因 HSV-TK 对肝癌细胞的杀伤效应,划痕试验证实肝癌细胞 GJIC 功能明显改善,HSV-TK 对肝癌细胞的杀伤效应也明显增高^[28]。但文献^[29]报道外源性方式提高 Cx 表达以抑制肿瘤细胞生长并不是 GJIC 功能恢复及重塑所致,而是与 Cx 自身磷酸化模式改变以及 Cx 再分布有关。

3 展 望

尽管 Cx 及 GJIC 在肝癌发生、发展中的作用已被证实,然而其中具体机制尚未完全明了,而新的 Cx 的发现以及关于 Cx 信号转导途径的深入研究使得这一问题更加复杂,仍有众多问题亟待解决。随着对 Cx 在肝癌中的表达规律及 GJIC 与肝癌发生、发展关系的深入研究,肝癌诊断、治疗及预后将有新的突破,也将为肝癌基因治疗提供新的手段。

参考文献

- [1] Goodenough DA, Goliger JA, Paul DL. Connexins, connexons, and intercellular communication[J]. Annu Rev Biochem, 1996, 65: 475-502.
- [2] Oyamada M, Oyamada Y, Takamatsu T. Regulation of connexin expression[J]. Biochim Biophys Acta, 2005, 1719(1-2): 6-23.
- [3] Beyer EC, Berthoud VM. The family of connexin genes. In: Harris AL, Locke D. eds. Connexins[M]. New York: Humana Press, 2009: 3-26.
- [4] Sohl G, Willecke K. An update on connexin genes and their nomenclature in mouse and man[J]. Cell Commun Adhes 2003, 10(4-6): 173-180.
- [5] Zhang JT, Nicholson BJ. The topological structure of connexin 26 and its distribution compared to connexin 32 in hepatic gap junction[J]. J Membr Biol, 1994, 139(1): 15-29.
- [6] Ara C, Massimi M, Devirgiliis Conti L. Retinoic acid modulates gap junctional intercellular communication in hepatocytes and hepatoma cells[J]. Cell Mol Life Sci, 2002, 59(10): 1758-1765.
- [7] Vinken M, Henkens T, De Rop E, et al. Biology and pathobiology of gap junctional channels in hepatocytes[J]. Hepatology 2008, 47(3): 1077-1088.
- [8] Omori Y, Krutovskikh V, Mironov N, et al. Cx32 gene mutation in a chemically induced rat liver tumour[J]. Carcinogenesis, 1996, 17(9): 2077-2080.
- [9] Anand RJ, Hackam DJ. The role of gap junctions in health and disease[J]. Crit Care Med, 2005, 33(12 Suppl): S535-538.
- [10] Dagli ML, Yamasaki H, Krutovskikh V, et al. Delayed liver regeneration and increased susceptibility to chemical hepatocarcinogen-

esis in transgenic mice expressing a dominant-negative mutant of connexin32 only in the liver[J]. Carcinogenesis, 2004, 25(4): 483-492.

[11] Leithe E, Sirnes S, Omori Y, et al. Downregulation of gap junctions in cancer cells[J]. Crit Rev Oncog 2006, 12(3-4): 225-256.

[12] Mesnil M, Crespín S, Avanzo JL, et al. Defective gap junctional intercellular communication in the carcinogenic process[J]. Biochim Biophys Acta, 2005, 1719(1-2): 125-145.

[13] Mesnil M. Connexins and cancer[J]. Biol Cell, 2002, 94(7-8): 493-500.

[14] Ito A, Katoh F, Kataoka TR, et al. A role for heterologous gap junctions between melanoma and endothelial cells in metastasis[J]. J Clin Invest, 2000, 105(9): 1189-1197.

[15] Ito A, Koma Y, Uchino K, et al. Increased expression of connexin 26 in the invasive component of lung squamous cell carcinoma: significant correlation with poor prognosis[J]. Cancer Lett, 2006, 234(2): 239-248.

[16] Nakashima Y, Ono T, Yamanoi A, et al. Expression of gap junction protein connexin32 in chronic hepatitis, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol, 2004, 39(8): 763-768.

[17] Edwards GO, Jondhale S, Chen T, et al. A quantitative inverse relationship between connexin32 expression and cell proliferation in a rat hepatoma cell line[J]. Toxicology, 2008, 253(1-3): 46-52.

[18] Sheen IS, Jeng KS, Wang PC, et al. Are gap junction gene connexins 26, 32 and 43 of prognostic values in hepatocellular carcinoma? A prospective study[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(19): 2785-2790.

[19] Zhang D, Kaneda M, Nakahama K, et al. Connexin 43 expression promotes malignancy of HuH7 hepatocellular carcinoma cells via the inhibition of cell-cell communication[J]. Cancer Lett, 2007, 252(2): 208-215.

[20] Omori Y, Li Q, Nishikawa Y, et al. Pathological significance of intracytoplasmic connexin proteins: implication in tumor progression

[J]. J Membr Biol 2007, 218(1-3): 73-77.

[21] Ma XD, Ma X, Sui YF, et al. Signal transduction of gap junctional genes, connexin32, connexin43 in human hepatocarcinogenesis[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(5): 946-950.

[22] Liu CL, Huang YS, Hosokawa M, et al. Inhibition of proliferation of a hepatoma cell line by fucoxanthin in relation to cell cycle arrest and enhanced gap junctional intercellular communication[J]. Chem Biol Interact, 2009, 182(2-3): 165-172.

[23] Li Q, Omori Y, Nishikawa Y, et al. Cytoplasmic accumulation of connexin32 protein enhances motility and metastatic ability of human hepatoma cells in vitro and in vivo[J]. Int J Cancer, 2007, 121(3): 536-546.

[24] Kawasaki Y, Omori Y, Li Q, et al. Cytoplasmic accumulation of connexin32 expands cancer stem cell population in human HuH7 hepatoma cells by enhancing its self-renewal[J]. Int J Cancer, 2011, 128(1): 51-62.

[25] Jordan CT, Guzman ML, Noble M. Cancer stem cells[J]. N Engl J Med, 2006, 355(12): 1253-1261.

[26] Hermann PC, Huber SL, Herrler T, et al. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer[J]. Cell Stem Cell, 2007, 1(3): 313-323.

[27] Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells[J]. Cell, 2008, 133(4): 704-715.

[28] Luo SW, Ye G, Zhang RG, et al. ATRA enhances the bystander effect of HSV-TK/GCV on BIU-87 cell line in vitro[J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2005, 5(1): 4-14.

[29] Ionta M, Ferreira RA, Pfister SC, et al. Exogenous Cx43 expression decrease cell proliferation rate in rat hepatocarcinoma cells independently of functional gap junction[J]. Cancer Cell Int, 2009, 9(22): 1-22.

(收稿日期: 2011-01-04)

• 综 述 •

胱抑素 C 的临床应用

唐红梅, 姜振伟 综述, 廖国林 审校
(武汉市普仁医院检验科 430081)

关键词: 肾功能试验; 肾小球滤过率; 胱抑素 C
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 02. 037

文献标识码: A **文章编号:** 1673-4130(2011)02-0216-03

胱抑素 C(CysC)是一种用于评价早期肾功能损伤的特异性高、准确性好且较为敏感的新指标,是反映肾小球滤过率(GFR)变化的理想标志物^[1-3]。本文现对 CysC 的临床应用研究进展进行综述。

1 胱抑素的结构和功能

CysC 是一种半胱氨酸蛋白酶抑制剂,由 122 个氨基酸组成,相对分子质量约为 13 300,等电点为 9. 3^[4]。人体类所有有核细胞均可分泌 CysC,其分泌及排泄均不受任何外来因素,如性别、年龄、饮食等的影响^[5-7]。CysC 相对分子质量低,等电点高,因此可被肾小球的滤过膜滤过,在近曲小管被完全重吸收并被完全分解代谢,肾小管不分泌 CysC。肾脏是清除循环中 CysC 的惟一器官,且 CysC 生成速度和血液浓度稳定^[8],因

此 CysC 是反映早期 GFR 变化理想、可靠的内源性标志物^[9-10]。

2 GFR 检测与肾功能评价

临床评价肾脏疾病进展和严重程度一般以肾功能为参考,而 GFR 是反映肾功能的重要指标之一,但 GFR 不能直接测定,必须以某物质(标志物)的肾清除率来反映。

根据 GFR 标志物来源,分外源性和内源性。

2.1 外源性标志物(如菊粉、碘海醇、⁵¹Cr-EDTA、^{99m}Tc-DTPA 等)肾清除率是反映 GFR 的“金标准”,但存在许多不足之处,例如标志物价格较高,同位素标记涉及放射暴露问题,标本采集、试验操作繁琐,需要特殊仪器设备,受年龄、性别和体表面积的影响较大,无法实现危急患者检测的及时性等,使其临