

CD147 在肿瘤血管生成中的作用*

田福亮¹, 鲍 倩¹, 唐志鹏²综述, 王书奎^{2△} 审校(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 210046; 2. 南京医科大学附属南京
第一医院中心实验室, 江苏 210006)**关键词:** 抗原, CD147; 基质金属蛋白酶类; 新生血管化, 病理性**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.02.035**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2011)02-0212-03

Biswas 首次发现 CD147 并命名为肿瘤细胞介导的胶原酶启动因子(TCSF), 可表达于肿瘤细胞表面, 启动邻近成纤维细胞产生基质金属蛋白酶(MMP)^[1]。由于 CD147 能够诱导细胞外 MMP 的产生, 因此也被称为细胞外 MMP 诱导因子(EMMPRIN)。根据 CD147 来源和功能的不同, 对其命名也有所不同, 在人体内被称 EMMPRIN 或白细胞活化相关 M6 抗原, 在小鼠体内被称为 basigin 或 gp42, 在大鼠体内被称为 OX47, 在鸡体内被称为 5A11、HT7 或 neurothelin^[2], 且不同种属 CD147 有较高同源性。为规范命名, 第六届人类白细胞分化抗原协作组会议将其命名统一为 CD147, 分属内皮细胞组。CD147 分子在体内分布广泛, 不仅与肿瘤的发生发展密切相关, 还参与 MMP 调节、组织重建、淋巴细胞应答、精子发生和发育及早期神经系统功能调节等^[3]。现就 CD147 在肿瘤血管生成中的作用进行综述。

1 CD147 结构与分布

人 CD147 分子为单次跨膜糖蛋白, 包括细胞外 N 端 2 个 C2 型免疫球蛋白区、24 个氨基酸残基组成的跨膜区和 C 端 39 个氨基酸残基组成的胞内区。细胞外 2 个免疫球蛋白区分别具有启动 MMP 和结合小窝蛋白-1 的活性。胞外区含有 3 个 Asn 糖基化位点, 用内切糖苷酶 F 处理 CD147 产生相对分子质量为 28 000~58 000 的 CD147 分子, 提示 CD147 的 N 端高度糖基化, 但糖基化程度具有组织特异性, 不同组织 CD147 的相对分子质量可为 40 000~68 000 不等, 而且在不同种属中, 由于蛋白分布不同, 其糖基化方式也有所不同, 不同糖基化方式又使蛋白发挥不同功能^[4]。

CD147 广泛表达于造血及非造血细胞, 包括上皮细胞、内皮细胞、粒细胞, 在白细胞中也有弱表达。CD147 也广泛分布于中枢神经系统, 其表达与中枢神经系统内皮细胞成熟度一致, 是血脑屏障形成的标志之一^[5]。

2 CD147 基因与表达调控

CD147 基因由 6 个外显子和 7 个内含子组成, 大小为 7.5 kb^[6-7]。CD147 基因 5' 上游序列不包括 TATA 盒或者 CAAT 盒, 但具有 CpG 富集岛。CD147 基因编码区域上游的 470 bp 片段能促进其转录, 其中上游 30 bp 片段包含了 Sp1 结合位点^[8]。

双向调节因子和表皮生长因子(EGF)可通过表皮生长因子受体(EGFR)中酪氨酸蛋白激酶(TPK)的启动诱导 CD147 表达, 其反义 cDNA 可以抑制 CD147 的表达和 MMP 活性, 表明 EGFR 信号通路在此调节过程中具有重要作用。CD147 分

子也可作为阳性调节因子, 通过正反馈作用诱导自身表达^[9]。

核蛋白、松果腺蛋白可能对 CD147 的表达有负调节作用^[10]。由于在许多类型的癌细胞中松果腺蛋白是下调的^[11], 因此该发现十分重要。

小窝蛋白-1 过度表达可导致 CD147 在细胞表面聚集减少, 且 MMP-1 诱导作用减弱, 因此小窝蛋白-1 具有肿瘤抑制效应^[12]。与小窝蛋白-1 的耦联可阻止形成高度糖基化的 CD147, 因此阻滞了 CD147 的聚集和活性^[13]。

3 CD147 的多功能性

与 CD147 相互作用的分子网络仍未完全明确。众多分子效应, 如 CD147 寡聚化, 同整合素^[14]、CD98^[15]、质子偶联单羧酸转运子^[16]、亲环素^[17]、AnnexinII^[18] 的结合在生物化学和功能方面都得到了很好的阐述; 但对 CD147 与小窝蛋白^[19]、MMP-1^[20]或碳水化合物^[21]相互作用的了解还需进一步深入。目前已发现 8 种与哺乳动物细胞中乳酸盐和丙酮酸盐的跨膜运输密切相关的单羧酸盐转运子, 在维持代谢平衡中具有重要生理功能, 与许多疾病, 如缺血性中风、癌症等密切相关。CD147 是单羧酸盐转运子运输、定位和发挥生物功能必需的辅助蛋白。细胞经转染后可过量表达单羧酸盐转运子 1 或者 4, 但较少表达于质膜上。如果单羧酸盐转运子 1 或者 4 与 CD147 共同表达, 则可诱导其表达于质膜上并具有功能活性^[22]。荧光共振能量迁移研究显示, 单羧酸盐转运子 1 和 CD147 在质膜上相互作用, 其最小复合体为单羧酸盐转运子 1、CD147 异二聚体^[23]。在部分 CD147 表达较少的视网膜色素上皮细胞中, 单羧酸转运子蛋白 1 和 3 的表达也较少, 提示 CD147 可能具有将其靶向转运至质膜的作用。研究证实通过与整合素 $\alpha 6 \beta 1$ 相互作用, CD147 可促进肝癌细胞的浸润潜能^[14]。

4 CD147 与肿瘤血管生成的关系

对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的研究阐释了肿瘤细胞中 CD147 的潜在作用^[19], 相关体内、外试验显示, 在肿瘤细胞中 CD147 可促进增加了血管内皮生长因子(VEGF)的产生^[24-26]。VEGF 是参与肿瘤形成及血管异常生成的主要调节因子。在人乳腺癌细胞中, CD147 表达的改变在 RNA 和蛋白质水平上均影响 VEGF 的产生。在乳腺癌细胞和成纤维细胞共培养体系中, 过表达 CD147 可上调 VEGF 的表达; 抑制 CD147 的表达、中和 CD147 的活性或抑制 MMP 的活性, 则会使 VEGF 表达受抑^[19]。在人类恶性胶质瘤细胞 U251 中也有类似发现^[25]。体内研究表明, 过表达 CD147 能刺激肿瘤血管生成和

* 基金项目: 南京医科大学科技发展基金面上项目(批准号: 09NJMUM070)。△ 通讯作者, E-mail: sk_wang@njmu.edu.cn。

肿瘤生长,用反义 RNA 抑制 CD147 表达,则二者均被抑制。上述研究提示 CD147 与 VEGF 的产生密切相关。

Tang 等^[21] 对与 VEGF 表达可能相关的信号通路,如 PI3K-Akt、MAPK、JUN、p38 激酶进行了研究,结果显示,在 MDA-MB-231 细胞中,过表达 CD147 只能刺激 Akt 和 MAPK 的磷酸化,不能刺激 JUN 和 p38 激酶的磷酸化;以抗体中和 CD147 的活性可特异性抑制 Akt 的激活和 VEGF 的产生。这些结果表明在肿瘤细胞和成纤维细胞中,CD147 通过 PI3K-Akt 途径调节 VEGF 的表达。

5 展 望

CD147 与恶性疾病的关系在多种癌症中已得到证实,如膀胱癌^[27]、肺癌^[28]、神经胶质瘤^[29]、黑色素瘤^[30]、淋巴瘤^[31] 和宫颈癌^[32],发现其在微小转移病灶中呈高表达,可诱导多种与癌症有关的恶性特点,如侵袭性、血管发生、非锚定依赖性生长和化学抗性。CD147 靶向治疗有可能成为新的、有效的肿瘤治疗方法。

参考文献

- [1] Biswas C, Zhang Y, DeCastro R, et al. The human tumor cell-derived collagenase stimulatory factor (renamed EMMPRIN) is a member of the immunoglobulin superfamily [J]. *Cancer Res*, 1995, 55 (2): 434-439.
- [2] Kasinrerker W, Fiebigler E, Stefanova I, et al. Human leukocyte activation antigen M6, a member of the Ig superfamily, is the species homologue of rat OX247, mouse basigin, and chicken HT7 molecule [J]. *J Immunol*, 1992, 149 (3): 847-854.
- [3] Seulberger H, Unger CM, Risau W. HT7, Neurothelin, Basigin, gp42 and OX-47-many names for one developmentally regulated immunoglobulinlike surface glycoprotein on blood-brain barrier endothelium, epithelial tissue barriers and neurons [J]. *Neurosci Lett*, 1992, 140 (1): 93-97.
- [4] Ochrietor JD, Moroz TP, Clamp MF, et al. Inactivation of the Basigin gene impairs normal retinal development and maturation [J]. *Vision Res*, 2002, 42 (4): 447-453.
- [5] Papoutsis M, Kurz H, Schachtelec C, et al. Induction of the blood-brain barrier marker neurothelin/ HT7 in endothelial cells by a variety of tumors in chick embryos [J]. *Histochem Cell Biol*, 2000, 113 (2): 105-113.
- [6] Miyauchi T, Jimma F, Igakura T, et al. Structure of the mouse basigin gene, a unique member of the immunoglobulin superfamily [J]. *J Biochem (Tokyo)*, 1995, 118 (4): 717-724.
- [7] Guo H, Majmudar G, Jensen TC, et al. Characterization of the gene for human EMMPRIN, a tumor cell surface inducer of matrix metalloproteinases [J]. *Gene*, 1998, 220 (1-2): 99-108.
- [8] Liang L, Major T, Bocan T. Characterization of the promoter of human extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) [J]. *Gene*, 2002, 282 (1-2): 75-86.
- [9] Li QQ, Wang WJ, Xu JD, et al. Up-regulation of CD147 and matrix metalloproteinase-2, -9 induced by P-glycoprotein substrates in multidrug resistant breast cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98 (11): 1767-1774.
- [10] Shi Y, Simmons MN, Seki T, et al. Change in gene expression subsequent to induction of Pnn/DRS/memA: increase in p21 (cip1/waf1) [J]. *Oncogene*, 2001, 20 (30): 4007-4018.
- [11] Shi Y, Ouyang P, Sugrue SP. Characterization of the gene enco-

- ding pinin/DRS/memA and evidence for its potential tumor suppressor function [J]. *Oncogene*, 2000, 19 (2): 289-97.
- [12] Tang W, Hemler ME. Caveolin-1 regulates matrix metalloproteinases-1 induction and CD147/EMMPRIN cell surface clustering [J]. *Biol Chem*, 2004, 279 (12): 11112-11118.
- [13] Tang W, Chang SB, Hemler ME. Links between CD147 function, glycosylation, and caveolin-1 [J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15 (9): 4043-4050.
- [14] Dai JY, Dou KF, Wang CH, et al. The interaction of HAb18G/CD147 with integrin $\alpha 6 \beta 1$ and its implications for the invasion potential of human hepatoma cells [J/OL]. *BMC Cancer*, 2009, <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/9/337>.
- [15] Melchior A, Denys A, Deligny A, et al. Cyclophilin B induces integrin-mediated cell adhesion by a mechanism involving CD98-dependent activation of protein kinase C-delta and p44/42 mitogen-activated protein kinases [J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314 (3): 616-628.
- [16] Chen H, Wang L, Beretov J, et al. Co-expression of CD147/EMMPRIN with monocarboxylate transporters and multiple drug resistance proteins is associated with epithelial ovarian cancer progression [J]. *Clin Exp Metastasi*, 2010, 27 (8): 557-569.
- [17] Yurchenko V, Constant S, Bukrinsky M. Dealing with the family: CD147 interactions with cyclophilins [J]. *Immunology*, 2006, 117 (3): 301-309.
- [18] Zhao P, Zhang W, Tang J, et al. Annexin II promotes invasion and migration of human hepatocellular carcinoma cells in vitro via its interaction with HAb18G/CD147 [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101 (2): 387-395.
- [19] Tang Y, Nakada MT, Kesavan P, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer stimulates tumor angiogenesis by elevating vascular endothelial cell growth factor and matrix metalloproteinases [J]. *Cancer Res*, 2005, 65 (8): 3193-3199.
- [20] Liang Q, Xiong H, Gao G, et al. Inhibition of basigin expression in glioblastoma cell line via antisense RNA reduces tumor cell invasion and angiogenesis [J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4 (7): 759-762.
- [21] Tang Y, Nakada MT, Rafferty P, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor expression by EMMPRIN via the PI3K-Akt signaling pathway [J]. *Mol Cancer Res*, 2006, 4 (6): 371-377.
- [22] Kirk P, Wilson MC, Heddle C, et al. CD147 is tightly associated with lactate transporters MCT1 and MCT4 and facilitates their cell surface expression [J]. *EMBO J*, 2000, 19 (15): 3896-3904.
- [23] Wilson MC, Meredith D, Halestrap AP. Fluorescence resonance energy transfer studies on the interaction between the lactate transporter MCT1 and CD147 provide information on the topology and stoichiometry of the complex in situ [J]. *Biol Chem*, 2002, 277 (5): 3666-3672.
- [24] Yan L, Zucker S, Toole BP. Roles of the multifunctional glycoprotein, emmprin (basigin, CD147), in tumour progression [J]. *Thromb Haemost*, 2005, 93 (2): 199-204.
- [25] Fu J, Fu J, Chen X, et al. CD147 and VEGF co-expression predicts prognosis in patients with acute myeloid leukemia [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2010, 40 (11): 1046-1052.
- [26] Liang YX, He HC, Han ZD, et al. CD147 and VEGF expression in advanced renal cell carcinoma and their prognostic value [J]. *Cancer Invest*, 2009, 27 (7): 788-793.
- [27] Xue YJ, Lu Q, Sun ZX. CD147 overexpression is a prognostic factor and a potential therapeutic target in bladder cancer [J/OL].

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,