

肝素酶与原发性肝细胞肝癌关系的研究进展

张银辉 综述, 张有忠, 朱国勇, 湛晓燕, 都 青 审校

(湖北省襄阳市中医院检验科 441000)

关键词: 肝素裂合酶; 肝肿瘤; 肿瘤浸润; 治疗**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.030**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2011)15-1722-02

原发性肝细胞肝癌(HCC)是最为常见的恶性肿瘤之一,早期无明显症状,临床确诊时,大部分已经处于中晚期。因此,大部分 HCC 患者自确诊后的平均 6 个月存活率不到 50%,5 年存活率仅 5%,HCC 是严重危害中国人群健康的重大疾病。

近年来发现的肝素酶(HPA)是一种能裂解细胞外基质(ECM)和基底膜(BM)中硫酸乙酰肝素蛋白多糖(HSPG)的内源性糖苷内切酶^[1]。越来越多的研究表明,HPA 在几乎所有的中晚期恶性肿瘤中都高表达,与肿瘤患者的预后不良关系密切。HCC 的高复发转移率是其致死率极高的主要原因之一^[2],而 HPA 作为中晚期 HCC 治疗的靶点之一已经受到越来越多的关注。因此,深入探讨 HPC 与 HCC 发生、发展的关系具有重要意义。

1 HCC 的侵袭与转移

1.1 HCC 的侵袭 对于 HCC 的侵袭,人们从癌细胞黏附、基质蛋白降解、肿瘤新生血管、器官靶向定植、上皮-间质转化(EMT)、肿瘤干细胞等多个病理改变进行了大量研究,具体到分子生物学层面上,则主要集中在与侵袭转移有关的基因、信号通路以及细胞因子上^[3]。目前研究表明,至少有十几种癌基因被证实可诱发或促进 HCC 细胞的转移潜能,如 *Myc*、*Ras*、*Mos*、*Raf*、*Fes*、*Ser*、*Fos*、*P53*、*ErbB-2* 等。近年来研究较多的还有 *EphA2*^[4] 和 *Sipal1*^[5],它们在肿瘤细胞迁移和血管生成中起着重要的作用。在信号通路上,JAK-STAT、MAPK、Wnt、Notch 等信号传导通路在肿瘤侵袭中扮演着承上启下的关键作用^[6]。与侵袭转移有关的细胞因子,包括血管内皮生长因子 1(VEGF1)、尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)、肝细胞生长因子(HGF)等。

1.2 HCC 的转移 中晚期 HCC 多发性转移,是患者致死的最主要原因,转移后的 HCC 患者手术意义不大,错过了宝贵的治疗机会。常见的 HCC 转移类型有以下几种:(1)HCC 细胞血行转移。肝内血行转移发生最早,也最常见,可侵犯门静脉并形成瘤栓。瘤栓脱落在肝内可引起多发性转移病灶,门静脉主干癌栓阻塞可引起门静脉高压和顽固性腹水,HCC 细胞侵犯肝静脉后即可进入体循环,发生肝外转移,以肺转移率最高,还可血行转移至全身各部,以肾上腺、骨、肾、脑等器官较为常见。(2)HCC 细胞淋巴转移。淋巴转移多以局部转移到肝门淋巴结最常见,也可转移至锁骨上、主动脉旁、胰、脾等处淋巴结,胆管细胞型 HCC 转移以淋巴转移居多,淋巴转移仅占转移总数的 12.6%;(3)HCC 细胞种植转移。种植转移偶尔发生,如种植于腹膜后形成血性腹水,女性尚可卵巢转移癌。

2 HPA 与 HCC 侵袭和转移的关系

2.1 HPA 的作用机制 恶性肿瘤一个共同的特点就是浸润转移。肿瘤细胞要发生转移,就必须同时破坏构成 ECM 的 2 种主要成分:结构蛋白和蛋白糖。过去的研究兴趣大多集中在以结构蛋白为底物的基质金属蛋白酶(MMPs)上,但后来发现

MMPs 至少有 17 种,所有 MMPs 合起来几乎能够降解所有的 ECM 的结构蛋白成分,对其中一个酶的抑制会有代偿的途径进行弥补,这样以结构蛋白为底物的蛋白酶的抑制剂就很难在抗肿瘤转移中发挥很好的作用。因此,寻找一种能够降解所有 ECM 的蛋白分子成为研究的热点。近年来发现,HPA 是唯一能裂解 ECM 内蛋白多糖主要成分 HSPG 的内源性糖苷内切酶,抑制 HPA 后可明显抑制肿瘤细胞的侵袭与转移。

2.2 HPA 与 HCC 侵袭转移 目前的研究表明,HPA 促进肿瘤转移的主要机制在于:(1)通过降解 HSPG 途径破坏 ECM、BM 的完整性,使膜的屏障功能减退,利于肿瘤细胞的浸润及转移;(2)促进肿瘤血管生成。在肿瘤的生长、转移中,新生血管的生成成为转移的肿瘤提供了非常便利的物质基础和通道。HPA 可通过直接、间接 2 种方式发挥促血管生成作用。一方面 HPA 可直接作用于内皮细胞以出芽方式促进血管生成,另一方面,成纤维细胞生长因子(bFGF)作为最强的血管生成诱导因子,平时以无活性形式与乙酰肝素结合贮存于 ECM 中,当 HSPG 被 HPA 裂解时,可将结合的有高度活性的 HS-bFGF 复合物从微环境中释放出来,间接诱发血管生成反应。目前,抗肿瘤血管的生成成为肿瘤治疗的一大热点,而 HPA 是肿瘤新生血管生成的上游事件,HPA 一方面降解 BM,另一方面可以释放锚定在 ECM 上的促血管生成因子,从而促进肿瘤细胞的转移及定植,因此,针对 HPA 的肿瘤治疗可能更优于针对 VEGF 的肿瘤治疗^[7-8]。

3 HPA 在 HCC 治疗中的临床应用

3.1 HPA 在 HCC 中的表达 在生理状态下,HPA 主要分布在胎盘、脾脏、血小板及中性粒细胞、单核细胞、T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞等免疫细胞内,在肝、肾及胰腺等均不表达。研究发现 HPA 在结肠癌、肝癌、卵巢癌、子宫内膜癌等多种恶性肿瘤细胞中异常高表达,而在正常组织中不表达。有学者运用逆转录 PCR(RT-PCR)法研究显示 47% 的 HCC 组织 HPA 的 mRNA 表达阳性,癌旁组织不表达或微弱表达,HPA 的 mRNA 及 HPA 的表达显著高于癌旁肝组织及正常肝组织($P < 0.05$),并证实 HPA 表达阳性与 HCC 术后转移复发正相关,说明 HPA 的表达可能与肝细胞的恶性转化及肿瘤的演进有关^[9]。进一步提示 HPA 表达阳性患者有较高的癌侵袭性和术后复发倾向^[10]。因此,HPA 可以成为 HCC 术后转移复发的预测指标。

3.2 基于 HPA 细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)表位的广谱肿瘤疫苗的研究 基于抗原提呈细胞如树突状细胞(DC)的肿瘤免疫治疗,因其毒副作用小、特异性强、操作简单等优势越来越受到学者的关注。HPA 作为一种广谱的肿瘤转移抗原,成为了理想的肿瘤共有抗原。人 HPA 抗原表位 525-533、277-285 和 405-413 以及小鼠 HPA 抗原表位 398-405 和 519-526 在体内、外均可诱导产生 HPA 多肽特异性的 CTL 反应,对 HPA 阳性

且主要组织相容性复合体(MHC)相匹配的肿瘤细胞具有明显的杀伤效应。体内研究表明,上述多肽表位对肿瘤小鼠具有明显的免疫保护和免疫治疗作用^[11]。Sommerfeldt 等^[12]亦从 HPA 氨基酸序列中设计了 3 条受组织相容性抗原(HLA-A2)限制的 HPA 抗原表位,即 HPA8-16、HPA16-24、HPA183-191。实验表明,这 3 条抗原表位负载的 DC 细胞均可以产生 HPA 特异性的 CTL,对 HPA 阳性且 HLA-A2 阳性的乳腺癌细胞(BT-20、BT-549 及 BT-124)具有明显的杀伤效应,而对 HLA-A2 阳性但 HPA 阴性的 MCF-7 乳腺癌细胞不具有杀伤效应。以上研究进一步提示,HPA 可以作为一种广谱的肿瘤相关抗原用于肿瘤的免疫治疗。与 HPA 全基因序列腺病毒负载 DC 疫苗相比,HPA 多肽疫苗没有腺病毒载体的参与,从而不必考虑载体及其整合的安全性,并且 CTL 抗原长度仅约 9 个氨基酸序列,体外可以合成,具有更为广阔的临床应用前景,因此很有可能成为临床上 HCC 的免疫治疗方法之一。

3.3 合成反义寡核苷酸抑制 HPA 表达 手术、放疗及化疗仍是目前肿瘤治疗的 3 种主要手段,但手术治疗对早期肿瘤疗效佳,许多患者在就诊时多为中晚期,已失去手术治疗的最佳时机,而放、化疗由于副作用大,对目标的选择性不高,不易为患者所接受。由于 HPA 与肿瘤的侵袭、转移及预后有关,其是否能作为一种广谱的抗肿瘤转移靶点,应用于中晚期肿瘤(包括 HCC)的治疗已成为目前研究的一大热点。随着反义核酸技术日趋完善,其特异性、选择性和效果有很大提高,特别经过修饰后增加了稳定性、与靶 RNA 的亲合力以及对细胞的通透性。在此基础上合成针对 HPA mRNA 的起始密码区的反义寡脱氧核苷酸,经硫代磷酸化修饰后,采用阳离子脂质体介导,转染至 HCC 细胞 SMMC-7221 和 BEL-7402 细胞,结果实验组的侵袭细胞数量明显低于对照组,证明了基于 HPA 的反义寡脱氧核苷酸能明显下调 HPA 的表达并抑制 HCC 细胞的侵袭力。

4 结 语

HPA 是近年来发现的与肿瘤浸润和转移密切相关的内切酶,能作为评价包括 HCC 患者在内的肿瘤患者临床预后的一个指标。对于中晚期 HCC,由于对多发性转移仍缺乏有效的治疗手段,基于 HPA 在 HCC 侵袭和转移中的作用,针对 HPA 靶位的肿瘤治疗不失为一种新的途径。但目前 HPA 活性检测方法繁琐,应用于临床有尚待进一步努力。

• 综 述 •

基质辅助激光解吸电离飞行质谱用于血培养中病原菌的快速鉴定研究进展

杨勤英¹综述,王 沛²审校

(1. 湖北省荆门市妇幼保健院检验科 448000; 2. 湖北省荆门市第一人民医院检验科 448000)

关键词: 研究; 基质辅助激光解吸电离飞行质谱; 病原菌; 血培养

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 15. 031

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1723-03

临床微生物检验与其他检验项目相比,最大的缺点是报告时间长,远不能满足临床的需要。分子生物学方法如 PCR 法虽可提高检测灵敏度,缩短检测报告时间,但假阳性率高,对实验室环境的要求很高,在操作的过程中还需使用一些毒性化学药品。快速、准确地从临床标本中检测鉴定出病原菌,对于感染

参考文献

- [1] Ben-Zaken O, Shafat I, Gingis-Velitski S, et al. Low and high affinity receptors mediate cellular uptake of heparanase[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2008, 40(3): 530-542.
- [2] Vonderheide RH. Prospects and challenges of building a cancer vaccine targeting telomerase[J]. Biochimie, 2008, 90(1): 173-180.
- [3] Nguyen DX, Massagué J. Genetic determinants of cancer metastasis[J]. Nat Rev Genet, 2007, 8(5): 341-352.
- [4] Yamaguchi S, Tatsomi T, Takeham T, et al. Immunotherapy of routine colon cancer using receptor tyrosine kinase EphA2-derived peptide-pulsed dendritic cell vaccines[J]. Cancer, 2007, 110(7): 1469-1477.
- [5] Minato N, HaRofi M. Spa-1(Sip1) and Rap signaling in leukemia and cancer metastasis[J]. Cancer Sci, 2009, 100(1): 17-23.
- [6] Galliher AJ, Schiemann WP. Src phosphorylates Tyr284 in TGF-beta type II receptor and regulates TGF-beta stimulation of p38 MAPK during breast cancer cell proliferation and invasion[J]. Cancer Res, 2007, 67(8): 3752-3758.
- [7] Ferro V, Dredge K, Liu L, et al. PI-88 and novel heparan sulfate mimetics inhibit angiogenesis[J]. Semin Thromb Hemost, 2007, 33(5): 557-568.
- [8] 周怀龙, 黎才海, 李其云. 乙酰肝素酶在肿瘤侵袭、转移及治疗作用中的研究进展[J]. 实用癌症杂志, 2010, 25(1): 104-106.
- [9] 罗志强, 刘锋, 邵江华, 等. 原发性肝癌组织中肝素酶表达与肝癌侵袭转移关系的研究[J]. 浙江临床医学, 2008, 10(12): 1560-1562.
- [10] 田志宏, 王顺祥, 张凤瑞. 乙酰肝素酶在原发性肝细胞肝癌中的表达及临床意义[J]. 河北医科大学学报, 2007, 28(3): 172-174.
- [11] Chen T, Tang XD, Wan Y, et al. HLA-A2-restricted CTL epitopes from human heparanase as novel targets for broad spectrum tumor immunotherapy[J]. Neoplasia, 2008, 10(9): 977-986.
- [12] Sommerfeldt N, Beckhove P, Ge Y, et al. Heparanase: a new metastasis-associated antigen recognized in breast cancer patients by spontaneously induced memory T lymphocytes[J]. Cancer Res, 2006, 66(15): 7716-7723.

(收稿日期: 2011-01-20)

性疾病的诊断、治疗及预后发挥着重要作用。基质辅助激光解吸电离飞行质谱(MALDI-TOF MS)是一项近期发展起来的检测新技术,已经广泛应用于临床检验医学的各个领域^[1-5]。

1 MALDI-TOF MS 简介

MALDI-TOF MS 是一项应用于细菌和真菌鉴定的快速