

代谢介质在癌性恶病质中的作用及其机制

沈永华 邹晓平

恶病质目前没有明确的定义,一般认为是一种进行性的消耗状态,多见于威胁生命疾病的晚期,如恶性肿瘤、艾滋病、慢性阻塞性肺疾病、慢性肾衰竭等。大约 50% 的恶性肿瘤患者会出现癌性恶病质(cancer cachexia, CC),其中 20% 直接死于 CC^[1]。CC 降低生活质量并缩短生存期,给这类病人带来极大危害,其发病机制尚不清楚,但一般认为是多因素的。虽然 CC 常会出现厌食,但是却不能单独用厌食引起的能量摄入下降来解释,而且,CC 甚至可以出现在没有厌食症状的患者中。CC 的发展还与一些代谢介质所介导的新陈代谢紊乱有关,这些代谢介质可以分成两类:一类是由宿主产生的,包括肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1 (interleukin-1, IL-1)、白介素-6 (IL-6)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 等;另一类是由肿瘤产生的,包括蛋白水解诱导因子(proteolysis induced factor, PIF)、脂肪动员因子(lipid mobilizing factor, LMF)等。代谢介质在 CC 中的作用至关重要,其相关研究很多,所以有必要进行综述。

一、宿主分泌的细胞因子

1. TNF- α 及 TNF 超家族成员 TWEAK: TNF- α 是一种具有多种生物学活性的多效性细胞因子,来源极为广泛,主要包括单核-吞噬细胞、T 细胞和 NK 细胞等。TNF- α 能杀伤或抑制肿瘤,但其在体内的大量产生和释放则会破坏机体的免疫平衡,与其他因子一起在恶病质等多种病理生理过程中起着重要的介质作用。研究发现,恶病质状态下的小鼠,血清 TNF- α 水平远高于正常或早期荷瘤小鼠,并且使用 TNF- α 抗体可使恶病质小鼠的一般情况明显改善^[2]。

在癌性恶病质过程中,肌肉损耗是由于蛋白合成和分解失衡,并且主要是因为蛋白分解增加。TNF- α 能够诱导肌肉消耗,它可以通过激活 NF- κ B 诱导

泛素-蛋白酶体途径进而导致肌肉分解。然而,氧化应激在骨骼肌消耗过程中也显得至关重要。在一个由 Yoshida 腹腔积液型肝癌诱导产生的癌性恶病质大鼠模型中研究证实,氧化应激可以在不涉及 NF- κ B 的情况下诱导肌肉萎缩^[3],这说明 TNF- α 诱导肌肉损耗的过程中可能涉及多项因素。

TNF- α 也可以通过刺激脂肪分解来诱导白色脂肪组织中的脂肪损耗,在此过程中,TNF- α 通过激活 MAPK p44/42 和 JNK,上调 MAPK 通路继而导致 perilipin (PLIN) 基因表达下调,从而诱导脂肪分解^[4]。PLIN 表达下调可能是 TNF- α 诱导脂肪分解的主要机制,因为一般认为 PLIN 是脂肪分解的屏障,当持续过表达 PLIN 时可阻断 TNF- α 分解脂肪的能力。另外,当在细胞培养液中加入 NF- κ B 的抑制剂时,TNF- α 诱导的脂肪分解作用会被有效减弱^[5],因此推测 NF- κ B 的激活在 TNF- α 诱导脂肪分解的过程中也起重要作用。

TNF 超家族的另一名成员 TWEAK (TNF-related weak inducer of apoptosis),与其受体成纤维细胞生长因子诱导早期反应蛋白 14 (fibroblast growth factor-inducible 14, Fn14) 结合后可引起广泛的生物学效应,包括参与细胞生长和增殖、参与血管生成、促进细胞因子分泌及诱导细胞凋亡等。有研究证实,TWEAK 与癌性恶病质发生也有关,长期慢性给予 TWEAK 可导致小鼠体重下降和骨骼肌重量减轻,这个过程可能涉及以下两种机制:抑制 PI_3K/Akt 信号通路和激活泛素-蛋白酶体与 NF- κ B 系统^[6]。

2. IL-6 及其家族成员 LIF、CNTF: IL-6 是一种多功能的细胞因子,主要来源于 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞和成纤维细胞,参与全身多个生理过程,包括造血功能调节、抗原特异性免疫应答、炎症反应及急性相反应等。多项研究提示,IL-6 也与 CC 的发生、发展有关。在 CC 小鼠模型中,可以观察到 IL-6 水平明显升高,与此同时,CC 小鼠也伴有严重的肌肉损耗^[7];Barton 等^[8] 在小鼠肺癌模型中发现,接种肺癌细胞后第 3 天就可以观察到 IL-6 表达量上升,而 1

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81071816)

作者单位:210008 南京大学医学院附属鼓楼医院消化科

通讯作者:邹晓平,电子信箱:zouxiaoping795@hotmail.com

周以后小鼠才进入恶病质状态,这就提示 CC 的发生可能先是由肿瘤负荷诱导宿主产生细胞因子,而后 IL-6 等细胞因子再来促进恶病质的发生。急性相反应蛋白(acute-phase response proteins, APRPs)是独立判断恶性肿瘤预后的因子之一,在了一项有关胃食管癌引起的恶病质实验中发现,血清 IL-6 水平和 APRPs 呈正相关^[9],因此可以大胆假设,在癌性恶病质患者或动物模型中,通过检测 IL-6 水平就可以间接判断恶性肿瘤的预后,这为晚期恶性肿瘤的诊断和治疗提供了新的思路。但是,IL-6 似乎并不能直接引起恶病质,在最近的一项研究中发现,IL-6 在荷瘤小鼠中过表达可以引起肌肉和脂肪消耗,然而在正常小鼠中则没有该作用^[10],提示 IL-6 必须在有肿瘤负荷作为中介的情况下才能间接诱导 CC 的发生。

白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)是一类具有广泛生物学功能的细胞因子,属于 IL-6 细胞因子家族,和 IL-6 一样都作用于 gp130 受体亚单位。除了经典的肝脏造血功能,LIF 在原始生殖细胞的增殖、HPA 轴激活和垂体发育、脂肪细胞的能量平衡等方面都具有重要作用。在机体 CC 形成过程中,可以观察到 LIF 水平升高,有研究提示其可能的机制:在肿瘤微环境中,宿主的巨噬细胞首先被激活并产生炎性细胞因子如 TNF,局部的 TNF 再作用于机体刺激其产生 IL-6 和 LIF,然后产生恶病质效应^[11]。

睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)是一种大小为 23kDa 的蛋白质,主要由外周神经系统的神经胶质细胞产生,也可以在骨骼肌中表达,结构和功能均类似于 IL-6。CNTF 起初是作为一种营养因子,应用于睫状神经节和脊髓运动神经元的疾病,但在随后的研究中发现,CNTF 可以引起体重下降,其机制与 IL-1 等细胞因子激活有关,但具体途径则完全不同。CNTF 可能是通过类似瘦素作用的途径,作用于相应的下丘脑靶点,激活下丘脑的 STAT3,引起脂肪组织消耗;而 IL-1 则不激活 STAT3,并且优先引起肌肉损耗^[12]。高剂量的 CNTF 不仅可以导致体重丢失,还能引起应激反应,这也许可以解释癌性恶病质病程中出现的食欲下降及进食量下降。

3. IFN- γ : IFN- γ 主要由活化 T 细胞和 NK 细胞产生,其功能与 TNF- α 部分重叠。TNF- α 和 IFN- γ 之间可以形成相互作用,当给予一定的 IFN- γ 时,会刺激 TNF- α 的产生。一项临床研究显示,

胰腺癌病人血清中的 IFN- γ 水平显著高于慢性胰腺炎病人和健康人群,而慢性胰腺炎病人血清中的 IFN- γ 水平和健康人群并无差异,说明 IFN- γ 可能和恶性肿瘤及 CC 的形成有关^[13]。另外,在动物实验中也得出,给予抗 IFN- γ 抗体可以缓解体重减轻,提高生存率。然而,先前进行的一项研究却并不支持 IFN- γ 的血清水平与 CC 有关这一观点^[14],IFN- γ 与 CC 的关系还有待进一步探索。

4. IL-1: IL-1 主要由活化的单核-吞噬细胞产生,可诱发厌食、体重减轻、低蛋白血症等,虽然 IL-1 的厌食效应广为人知,但给予荷瘤大鼠 IL-1 受体拮抗剂并没有使得其恶病质程度发生任何改善,因此提示 IL-1 在 CC 中的作用与其他代谢介质相比是次要的^[15]。

二、肿瘤分泌的代谢介质

1. PIF: PIF 是一种从小鼠 MAC16 瘤或恶病质患者尿中提取的糖蛋白,其分子大小为 24kDa。PIF 能够在多种不同肿瘤诱导的恶病质患者的尿中检测到,而在健康人、良性疾病、外伤等非肿瘤性疾病引起的体重下降以及非恶病质诱导性肿瘤病人中都检测不到 PIF 的存在,这提示 PIF 可能是 CC 的特异性因子。

在分离的小鼠肌管中,PIF 能抑制蛋白合成和刺激蛋白分解,并且,PIF 诱导特异性的肌球蛋白的损耗,而肌动蛋白水平保持不变。对上述现象进行进一步研究后显示,在小鼠肌管中 PIF 诱导了泛素-蛋白酶体途径中多种组分的表达,包括 20S 蛋白酶体 α 亚单位、MSS1、p42 等;当转染抑制蛋白 I κ B α 的突变体后,PIF 不能引起 NF- κ B 释放和核聚集,同时其诱导蛋白分解的作用也会减弱^[16]。这提示 PIF 诱导骨骼肌中蛋白分解是通过诱导泛素-蛋白酶体途径实现的,并且这一途径是由 PIF 激活转录因子 NF- κ B 来诱导的。

PIF 激活泛素-蛋白酶体途径的过程中可能还涉及活性氧(reactive oxygen species, ROS)的形成。PIF 引起肌管中 ROS 迅速并短暂的升高,应用抗氧化剂可以通过阻止激活 NF- κ B 从而减弱 PIF 诱导的泛素-蛋白酶体途径的活性,提示 ROS 的形成在此过程中起重要作用^[17]。另外有研究发现,PIF 通过 dsRNA 依赖性蛋白激酶(protein kinase resource, PKR)的激活来抑制骨骼肌中蛋白合成和诱导蛋白水解。PIF 介导 PKR 磷酸化从而激活 PKR,然后导致 eIF2 α 磷酸化,抑制翻译起始;PKR 的激活还可导致 NF- κ B 活化,通过直接作用或 ROS 形成从而导致泛

素-蛋白酶体途径表达和活性增加^[18]。

2. LMF: 与 PIF 的来源相似, LMF 从小鼠 MAC16 瘤或恶病质患者尿中分离得到, 其氨基酸序列和免疫反应性等同于另一种血浆蛋白——锌 α_2 糖蛋白 (Zn- α_2 -glycoprotein, ZAG)。ZAG 存在于人体血浆和多种体液中, 近几年发现也可由脂肪细胞分泌, 是一种新型脂质动员因子, 因能被锌盐沉淀, 并与血浆 α_2 球蛋白的电泳迁移率相似而得名。

在肿瘤诱导的恶病质小鼠和进入恶病质阶段的癌症病人中, 都可以观察到脂肪氧化增加。LMF 和 ZAG 都可以通过经典的 cAMP 介导机制来诱导脂肪分解, 这是一个依赖 GTP、刺激腺苷酸环化酶并激活激素敏感性脂肪酶 (hormone sensitive lipase, HSL) 的过程。HSL 是脂肪分解的关键酶, LMF/ZAG 可以使脂肪组织中 HSL 的活性增高, 进而促进脂肪分解。而在另一项研究中提示可能有其他机制参与了这个过程, ZAG 促进脂肪细胞释放甘油的作用可以被 cAMP 磷酸二酯酶抑制剂 Ro20-1724 增强, 被 β_3 肾上腺素受体的特异性阻断剂 SR59230A 所减弱, 提示 ZAG 可能通过与 β_3 肾上腺素受体结合进而激活细胞内 cAMP 信号转导途径来促进脂肪分解^[19]。解偶联蛋白 (UCP) 存在于某些生物细胞的线粒体内膜上, 其中 UCP-1、UCP-2 与 UCP-3 在能量分解代谢和脂肪分解过程中起重要作用。在 Bing 等人的一项研究中^[20], 给正常小鼠静脉注射 LMF 后发现, UCP-1、UCP-2 与 UCP-3 在褐色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT) 中均升高, 其中 UCP-2 在骨骼肌和肝脏中的含量也明显升高, 这提示 UCP 可能与癌性恶病质中的脂肪分解有关。

除了对脂肪代谢的影响, LMF 对蛋白质代谢也有作用。它通过 cAMP 介导或 β -肾上腺素受体介导过程刺激蛋白合成和通过降低蛋白酶体活性抑制蛋白分解^[21]。从这个层次上来说, LMF 和 PIF 是相互拮抗的。

三、结 语

综上所述, 机体的新陈代谢改变通常发生在肿瘤生长开始后不久, 合适的治疗, 虽然目标不是完成对肿瘤的立即根除, 但能影响病人的临床过程, 可以改善病人的生活质量, 并且可能会延长生存期。虽然关于细胞因子在宿主中的作用已经经过多年的研究, 但是是否由体液因子调节瘦组织群和身体脂肪的溶解等大量争议仍然存在。更好地理解癌性恶病质中细胞因子的作用, 不管是宿主还是肿瘤分泌的, 对未来

制定恶性肿瘤的治疗策略至关重要。到目前为止还没有单一的治疗措施能够对所有癌症患者有效, 对癌性恶病质中代谢介质及其分子机制的研究可以为将来的分子治疗提供靶点。随着对癌性恶病质发病机制的深入研究以及新的治疗药物的开发, 恶性肿瘤患者有望能得到更好的治疗。

参考文献

- 1 Tisdale MJ. Mechanisms of cancer cachexia[J]. *Physiol Rev*, 2009, 89 (2): 381-410
- 2 何文杰, 任宏轩. 癌性恶病质与细胞因子研究进展[J]. *河北医药*, 2010, 32 (4): 475-476
- 3 Mastrocola R, Reffo P, Penna F, *et al.* Muscle wasting in diabetic and in tumor-bearing rats: role of oxidative stress[J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44 (4): 584-593
- 4 Rydén M, Arvidsson E, Blomqvist L, *et al.* Targets for TNF- α -induced lipolysis in human adipocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 318 (1): 168-175
- 5 Laurencikiene J, van Harmelen V, Arvidsson Nordström E, *et al.* NF- κ B is important for TNF- α -induced lipolysis in human adipocytes[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48 (5): 1069-1077
- 6 Dogra C, Changotra H, Wedhas N, *et al.* TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) is a potent skeletal muscle-wasting cytokine[J]. *FASEB J*, 2007, 21 (8): 1857-1869
- 7 White JP, Baltgalvis KA, Puppia MJ, *et al.* Muscle oxidative capacity during IL-6-dependent cancer cachexia[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011, 300 (2): R201-211
- 8 Barton BE, Murphy TF. Cancer cachexia is mediated in part by the induction of IL-6-like cytokines from the spleen[J]. *Cytokine*, 2001, 16 (6): 251-257
- 9 Krzystek-Korpacka M, Matusiewicz M, Diakowska D, *et al.* Acute-phase response proteins are related to cachexia and accelerated angiogenesis in gastroesophageal cancers[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2008, 46 (3): 359-364
- 10 Baltgalvis KA, Berger FG, Pena MM, *et al.* Interleukin-6 and cachexia in *Apc^{Min/+}* mice[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008, 294 (2): R393-401
- 11 Billingsley KG, Fraker DL, Strassmann G, Cork BA, *et al.* Macrophage-derived tumor necrosis factor and tumor-derived leukemia inhibitory factor and interleukin-6: possible cellular mechanisms of cancer cachexia[J]. *Ann Surg Oncol*, 1996, 3 (1): 29-35
- 12 Lambert PD, Anderson KD, Sleeman MW, *et al.* Ciliary neurotrophic factor activates leptin-like pathways and reduces body fat, without cachexia or rebound weight gain, even in leptin-resistant obesity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98 (8): 4652-4657
- 13 Talar-Wojnarowska R, Gasiorowska A, Smolarz B, *et al.* Tumor necrosis factor alpha and interferon gamma genes polymorphisms and serum levels in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Neoplasma*, 2009, 56 (1): 56-62
- 14 Maltoni M, Fabbri L, Nanni O, *et al.* Serum levels of tumour necrosis factor alpha and other cytokines do not correlate with weight loss and

- anorexia in cancer patients[J]. Support Care Cancer, 1997, 5 (2): 130 - 135
- 15 Costelli P, Llovera M, Carbo N, *et al.* Interleukin - 1 receptor antagonist (IL - 1ra) is unable to reverse cachexia in rats bearing an ascites hepatoma (Yoshida AH - 130)[J]. Cancer Lett, 1995, 95 (1 - 2): 33 - 38
 - 16 Wyke SM, Tisdale MJ. NF - kappaB mediates proteolysis - inducing factor induced protein degradation and expression of the ubiquitin - proteasome system in skeletal muscle[J]. Br J Cancer, 2005, 92 (4): 711 - 721
 - 17 Russell ST, Eley H, Tisdale MJ. Role of reactive oxygen species in protein degradation in murine myotubes induced by proteolysis - inducing factor and angiotensin II[J]. Cell Signal, 2007, 19 (8): 1797 - 1806
 - 18 Eley HL, Tisdale MJ. Skeletal muscle atrophy, a link between depression of protein synthesis and increase in degradation[J]. J Biol Chem, 2007, 282 (10): 7087 - 7097
 - 19 Russell ST, Zimmerman TP, Domin BA, *et al.* Induction of lipolysis in vitro and loss of body fat in vivo by zinc - alpha2 - glycoprotein [J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1636 (1): 59 - 68
 - 20 Bing C, Russell ST, Beckett EE, *et al.* Expression of uncoupling proteins - 1, - 2 and - 3 mRNA is induced by an adenocarcinoma - derived lipid - mobilising factor[J]. Br J Cancer, 2002, 86 (4): 612 - 618
 - 21 Islam - Ali BS, Tisdale MJ. Effect of a tumour - produced lipid - mobilizing factor on protein synthesis and degradation[J]. Br J Cancer, 2001, 84 (12): 1648 - 1655

(收稿:2011 - 02 - 25)

(修回:2011 - 06 - 24)

肠道细菌移位研究进展

王 彤 田 巍

正常情况下,肠道具有屏障作用,于晓明等^[1]认为肠道屏障包括机械、化学、免疫和生物 4 个部分, Magnotti 等^[2]认为肠道屏障包括生物、机械、免疫和肠肝轴 4 部分。肠道屏障可有效阻挡肠道内寄生菌及其毒素向肠腔外移位,正如 Leaphart 等^[3]指出,肠道是器官功能不全的“发动机”,在创伤、感染和休克等情况下,肠道屏障的任意部分受损,可导致肠道功能损害,引起细菌移位(bacterial translocation, BT),继而出现炎症反应综合征、严重时导致多器官功能衰竭甚至死亡。本文就近年来细菌移位的发生、危险因素及预防措施的进展做一综述。

一、细菌移位概念、发生率、临床意义和发生机制

1. 概念:细菌移位(BT)是 Berg 等^[4]于 1979 年提出,指胃肠道内活的寄生菌穿过黏膜,进入正常无菌的组织如肠系膜淋巴结(mesenteric lymph nodes, MLN)以及其他体内器官。Gatt 等^[5]最近提出该名词也适用于体内其他分子如脂多糖内毒素和肽聚糖穿过肠道黏膜屏障。

2. 发生率和临床意义:关于 BT 的发生率,动物实验中报道肠道 BT 发生率可达 100%^[6],临床研究报道 BT 发生率 14.0%^[7]。目前国内外检测肠道 BT

的方法普遍采用组织细菌培养法,即获取肠系膜淋巴结等组织进行细菌培养。而造成动物实验和临床研究中 BT 发生率差别的原因可以解释为物种不同,个体的基础疾病和遗传素质的差别,也有研究者认为该差别与取样的差异有关,即在人类研究中因为伦理方面的关系,肠系膜淋巴结取样的数量少于动物实验,因而造成了研究结果的差异。近年来,由于分子生物学技术的发展,研究者报道,通过分离患者外周血或体液中特定细菌的 DNA 片段,扩增后测序,来确定有无肠道 BT^[8,9]。结果发现,与血培养相比,多聚酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测手段更敏感,阳性率更高,而且能特异性检测某种细菌。该方法的缺点是,仅能检测到存在细菌碎片,无法明确细菌的活力和数量,而且不能行药敏实验。

MacFie 等^[7]发现,BT 与患者术后脓毒症相关。早年的研究认为,BT 在人类中存在,但发生率不高,仅 15% 左右,不是患者病死率高的主要原因^[10]。早年的研究多基于肠系膜淋巴结培养的结果,存在上述方法学方面的缺陷。随着近年来分子生物学技术的发展,研究有了深入。Tsujimoto 等^[11]将磷酸脱氧鸟苷酸(CpG 是一种寡核苷酸,存在于细菌中,通过与 Toll - like 受体结合,刺激淋巴细胞增殖,分泌细胞因子)DNA,注入盲肠结扎穿刺后存在腹膜炎的小鼠静脉内,结果发现,与未注射 CpG DNA 的腹膜炎小鼠相

作者单位:100078 北京中医药大学东方医院(王彤);100035 北京积水潭医院(田巍)

通讯作者:田巍,副主任医师,电子信箱:twtd@163.com