

半乳凝素-9 在多种肿瘤中的表达及功能研究进展

杨 龙 李 军 魏云巍

摘 要 半乳凝素-9(galectin-9, Gal-9)作为半乳凝素家族的一员,与其他家族成员一样,参与了机体的多种生物学功能。研究证实,在多种类型的肿瘤组织和细胞中均有 Gal-9 的表达,而且 Gal-9 的差异表达也与肿瘤的发生、发展密切相关,例如, Gal-9 的表达调控参与了肿瘤细胞的存活、黏附转移、免疫逃逸以及肿瘤的血管生成等,因此, Gal-9 可作为肿瘤诊断和预后的指标以及肿瘤治疗的靶点。本文对 Gal-9 在肿瘤中表达及功能的研究进展做一综述,并探讨 Gal-9 在肿瘤临床治疗上的应用前景。

关键词 半乳凝素-9 半乳凝素家族 肿瘤

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.09.048

半乳凝素家族成员具有特征性的氨基酸序列:由大约 130 个高度保守的氨基酸序列组成糖识别结构域(carbohydrate recognition domain, CRD),能够特异性识别并结合 β -半乳糖基糖缀合物^[1],在 Gal-9 发现早期,其特征性的功能是能够诱导嗜酸性粒细胞聚集和活化,而随着研究的深入,在调控细胞的分化、黏附、凋亡、炎症反应以及抗移植排斥方面, Gal-9 也发挥了重要的作用。此外,近年来,越来越多的研究人员将 Gal-9 的研究转移到肿瘤发生、发展的调控上,并取得了一定的成果,为肿瘤的诊断、预后评估以及治疗提供了新的策略。

一、Gal-9 的概述

Gal-9 是由两个糖识别结构域(carbohydrate recognition domain, CRD)串联融合而成,是一种串联重复型的半乳凝素^[2],其中 N 末端 CRD 含有 148 个氨基酸, C 末端 CRD 含有 149 个氨基酸,二者之间由一条肽链相连,并且 N 末端和 C 末端的 CRD 对糖缀合物表现出不同的特异性和亲和力^[3]。此外,二者的空间结构也不尽相同,如鼠型 N-CRD 为二聚体形式,人型 N-CRD 为单体形式,人型 C-CRD 为三聚体形式^[4],这种空间结构的不同也导致了生物功能存在差异性,最近的实验结果表明 C-CRD 主要决定受体识别和 T 细胞死亡信号途径,而 N-CRD 的主要作用是通过诱导肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)的分泌以及 p38 和 Akt 的磷

酸化从而活化树突状细胞(DCs)^[5]。除此之外, Gal-9 能与多种基因蛋白相互作用,调节多种生物学功能。Gal-9 与表达于细胞表面的糖蛋白 CD44 结合,参与细胞的黏附作用以及能够稳定的调控 T 细胞的功能^[6];与 NF-IL6 相互作用能够激活单核细胞炎症因子的释放^[7];与免疫球蛋白黏蛋白 3(TIM-3)相互作用能够调控神经胶质细胞的活性^[8]。总之, Gal-9 与基因蛋白的关系正引起研究人员的极大兴趣,二者之间的机制研究也成为重要的研究方向。

二、Gal-9 与肿瘤

近年来,在不同的肿瘤组织和细胞中均检测到了 Gal-9 的表达^[9],而且大多数研究证实,与正常组织相比,肿瘤组织中 Gal-9 的表达呈下调的趋势。不仅如此,这种表达差异性也与肿瘤的恶性程度存在一定的相关性,在良性向恶性转变过程中, RNA 和蛋白水平上都表现出 Gal-9 的表达下调趋势^[10]。研究表明在诊断乳腺癌组织标本是否有转移的情况下,检测 Gal-9 的表达要好于检测淋巴结的侵袭情况,因为在转移的癌组织标本中大部分 Gal-9 呈低表达或不表达,另外,高表达 Gal-9 的患者生存期明显高于低表达 Gal-9 的患者,类似的结果也出现在黑色素瘤、宫颈鳞状细胞癌和肝癌的研究中^[11]。总之,对于大多数实体瘤来说, Gal-9 的表达与肿瘤的进展呈负相关,而且 Gal-9 与其他半乳凝素家族成员一样,正日益成为恶性肿瘤诊断及预后的标志物。

1. Gal-9 调控肿瘤细胞的凋亡:在肿瘤生物学方面,对半乳凝素最广泛的研究特性是其参与调节细胞的活性,许多半乳凝素家族成员都参与调控了细胞周期以及诱导多种类型细胞凋亡的过程^[12-14],其中

基金项目:黑龙江省科技攻关计划项目(GC08C415)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院

通讯作者:魏云巍,教授,电子信箱:hydwyw@hotmail.com

Gal-9 对 T 淋巴细胞的促凋亡效应主要依赖于 β -半乳糖苷的结合活性以及通过 NF- κ B 和钙-钙蛋白酶的 caspase-1 的信号通路转导作用。研究发现 Gal-9 介导 T 细胞凋亡的受体除了 TIM-3 以外,其他的受体也可能参与到这一过程。此外,人重组的 Gal-9 蛋白(hGal-9)在体内和体外实验中都能诱导骨髓瘤细胞的凋亡,而这种促凋亡的效应主要依赖于激活 JNK(c-jun 氨基末端激酶)和 p38 MAPK(丝裂原活化蛋白激酶)的信号通路。另有一些文献报道指出某些能够影响细胞活性的因素也同样可以引起 Gal-9 表达的变化,比如在内皮细胞中 IFN γ 能够降低细胞的活性,同时也检测到其造成了 Gal-9 的表达上调。总之, Gal-9 能够诱导多种免疫细胞的凋亡, Gal-9 的表达的下调可能赋予了细胞对凋亡的抵抗或增加细胞增殖的潜能,然而,对 Gal-9 的促肿瘤细胞凋亡具体的机制仍不详,需要进一步的研究。鉴于 Gal-9 复杂的生物活性,尤其在诱导免疫细胞凋亡机制方面研究的比较透彻, Gal-9 对其他肿瘤细胞的凋亡作用在未来仍有巨大的研究空间。

2. Gal-9 调控肿瘤细胞的转移:在肿瘤细胞转移的过程中, Gal-9 也扮演了重要的角色。例如,高表达 Gal-9 的黑色素瘤细胞株可形成集落,而缺乏 Gal-9 表达的细胞株不形成集落,这一结果也同样出现在乳腺癌细胞株 MCF7 的研究中,而且外源性增加 Gal-9 的表达能够促成细胞集落的形成。此外,增加 Gal-9FL 和 Gal-9 Δ 5/6 的表达能够抑制 MCF-7 细胞与细胞外基质的黏附,而增加其他 Gal-9 异构体不会造成这一结果。而另一研究表明,增加口腔鳞癌细胞中 Gal-9 的表达能够增强癌细胞与胶原蛋白和纤维连接蛋白的黏附,但是,这一研究并未证实是哪一种具体的 Gal-9 异构体过表达造成的这一现象,因此,不同的 Gal-9 剪接异构体可能会造成不同的黏附作用^[15]。

事实上,大多数实验表明 Gal-9 的表达与肿瘤的侵袭性呈负相关。与原位癌组织相比,远处转移的黑色素瘤和乳腺癌肿瘤组织中 Gal-9 的表达下调;在体外实验中,下调 Gal-9 的表达能够加强肝癌细胞的侵袭活性^[11];外源重组的 Gal-9 蛋白静脉给药后能够降低 B16F10 和 Colon26 结肠癌细胞的肺转移活性^[16]。在后者的机制研究中证实, Gal-9 抑制了这两种细胞中透明质酸与 CD44 的结合,而在 B16F10 细胞中, Gal-9 同样抑制了血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)和整合素 $\alpha_4\beta_1$ 的结合,从而阻止

了细胞的转移。值得注意的是,不同的半乳糖凝集素可以结合不同的整合素,从而参与调控细胞的黏附,另外半乳糖凝集素与整合素结合作用的研究正在应用于作为诊断和治疗肿瘤的靶向工具。总之,目前的数据表明, Gal-9 不仅能够抑制细胞转移和维持组织的完整性,而且会阻碍肿瘤细胞的迁移和外渗,其结果是,在肿瘤进展过程中缺乏 Gal-9 的表达会导致肿瘤细胞更倾向于转移。

3. Gal-9 调控肿瘤细胞的免疫逃逸:自发现 Gal-9 以来,研究人员已广泛探究了其免疫炎症的相互作用。 Gal-9 作为一种细胞因子能够调节多种免疫细胞的活性及功能,然而其是否参与了肿瘤细胞免疫逃逸的过程仍需进一步验证。首先, Gal-9 最主要的特点是对嗜酸性粒细胞的趋化作用,而嗜酸性粒细胞具有抗肿瘤活性的作用,因此,这些免疫细胞的存在预示着预后良好。在肿瘤的微环境中常常能够检测到嗜酸性粒细胞的存在,但其之间的关系仍有待研究确定,是否为肿瘤发展过程中衍生的 Gal-9 介导嗜酸性粒细胞浸润到肿瘤微环境中发挥效应还是在肿瘤发展过程中衍生的嗜酸性粒细胞介导的 Gal-9 的表达下调从而导致抗肿瘤活性降低的生物效应。另外,已经证实在胶原诱导的关节炎小鼠模型中, Gal-9 能够抑制 Th17 细胞的分化,促进 CD4⁺CD25⁺T(Treg)细胞的分化。体外研究中, Gal-9 能够诱导 CD4 1 型辅助性 T 细胞(Th1)和 CD8 细胞毒性 T 细胞(Tc)的凋亡。与此同时, Gal-9 能够引导 2 型辅助性 T 细胞的迁移通过胞外基质,而不诱导其凋亡^[17]。所有这些都表明 Gal-9 具有免疫抑制活性,从而可能导致了肿瘤细胞的免疫逃逸,然而, Gal-9 的这种免疫抑制作用很难和其低表达而预后差的情况相一致,其原因可能是 Gal-9 表达的缺失是发生在肿瘤发展过程中,从而使肿瘤细胞更容易转移,造成了多种免疫逃逸的发展模式。

4. Gal-9 调控肿瘤血管生成:肿瘤的血管生成在肿瘤发生、发展过程中十分重要,其中内皮细胞能够表达多种细胞因子参与到血管的形成,而现已研究表明,半乳糖凝集素家族成员 Gal-1、Gal-3、Gal-8 和 Gal-9 都参与到肿瘤的血管生成过程中,这些家族成员不仅参与了最初的血管内皮细胞的激活,也参与调控血管生成的级联反应中^[18,19]。近年来,也有研究证实血管内皮细胞能够表达多个 Gal-9 的剪接异构体从而发挥不同的生物效应。此外,在内皮细胞激活过程中能够调节 Gal-9 的表达,而 Gal-9 表达的

调控似乎与 IFN γ 和 HDAC3 有关。尽管 Gal-9 不能直接促进肿瘤血管的生成,但 Gal-9 能够通过吸引嗜酸性粒细胞或扩大树突状细胞来释放血管生长因子(VEGF)从而促进肿瘤血管的生成。由于肿瘤的血管生成是一个极其复杂的过程,参与的活性物质也类型众多,Gal-9 在这一过程中具体的功能机制还不清楚,仍需要系统地研究探索。

三、Gal-9 治疗肿瘤的潜力

近年来许多文献报道了半乳凝素家族成员 Gal-1 和 Gal-3 具有抗肿瘤的作用^[20],同样 Gal-9 也具有靶向治疗肿瘤的潜力。正如外源重组的 Gal-9 蛋白,在小鼠免疫系统疾病模型中已成功起到了治疗的作用,其中就包括移植物抗宿主病、多发性硬化症、幼年型皮肌炎和心肌炎^[21~24]。事实上,Gal-9 也参与治疗一些免疫系统的肿瘤,例如在白血病和骨髓瘤等癌细胞中 Gal-9 能够通过诱导细胞凋亡而阻碍癌细胞的生长;结肠癌小鼠模型中,Gal-9 通过抑制细胞的迁移从而阻碍肿瘤进展;在黑色素瘤模型中 Gal-9 通过扩大树突状细胞和增强 NK 细胞发挥抗肿瘤免疫应答的效应,类似的效应也出现在肺癌的小鼠模型中。这些初步的研究结果证实在治疗肿瘤的研究中,Gal-9 能够发挥一定的作用,并值得在其他癌症上做进一步的研究。对于 Gal-9 与肿瘤关系的研究,除了外源性干扰 Gal-9 的表达,Gal-9 蛋白本身也可应用到靶向特异性受体或调控肿瘤因子的相互作用上。其中还应考虑不同的 Gal-9 亚型发挥不同的生物作用。研究结果既可以用于肿瘤的诊断,也可应用到肿瘤的治疗。

Gal-9 自发现以来引起了人们极大的兴趣,研究早期,其特征性的功能是能够诱导嗜酸性粒细胞聚集和活化,而随着研究的深入,在调控细胞的分化、黏附、凋亡、炎症反应以及抗移植排斥方面,Gal-9 也发挥了重要的作用。自身免疫性疾病、炎症反应、移植排斥反应、恶性血液病等都于其存在密切的关系,甚至近日的研究发现 Gal-9 也可能参与了埃博拉病毒引起的临床疾病反应中。此外,近年来,越来越多的研究人员将 Gal-9 的研究转移到肿瘤发生、发展的调控上,并取得了一定的成果,到目前为止,已经证实 Gal-9 参与了肿瘤细胞的黏附、转移、凋亡、免疫逃逸以及肿瘤的血管生成,而且 Gal-9 对肿瘤发生、发展的调节是通过多种机制实现的,然而将 Gal-9 应用于临床还有待于进一步的成熟的系统研究。利用最新的生物芯片等生物信息分析技术能够很快的

检测到与 Gal-9 相互作用的基因,促进完善其在肿瘤发生及发展过程中作用机制的研究。随着对 Gal-9 认识的不断深化,Gal-9 作为肿瘤诊断标志物、预后评估指标、治疗药物的靶点将带来令人瞩目的应用价值和前景。

参考文献

- Ebrahim AH, Alalawi Z, Mirandola L, *et al.* Galectins in cancer: carcinogenesis, diagnosis and therapy[J]. *Ann Transl Med*,2014 ,2 (9):88
- Wiersma VR, Bruyn M, Helfrich W, *et al.* Therapeutic potential of Gal-9 in human disease[J]. *Med Res Rev*,2013 ,33(1):102-126
- Yoshida H, Teraoka M, Nishi N, *et al.* X-ray structures of human galectin-9 C-terminal domain in complexes with a biantennary oligosaccharide and sialyllactose[J]. *Biol Chem*,2010 ,285 (47):36969-36976
- Nonaka Y, Ogawa T, Oomizu S, *et al.* Self-association of the galectin-9 C-terminal domain via the opposite surface of the sugar-binding site[J]. *J Biochem* ,2013 ,153(5):463-471
- Li Y, Feng J, Geng S, *et al.* The N- and C-terminal carbohydrate recognition domains of galectin-9 contribute differently to its multiple functions in innate immunity and adaptive immunity[J]. *Mol Immunol*,2011 ,48(4):670-677
- Wu C, Thalhamer T, Franca RF, *et al.* Galectin-9-CD44 interaction enhances stability and function of adaptive regulatory T cells[J]. *Immunity*,2014,41(2):270-282
- Matsuura A, Tsukada J, Mizobe T, *et al.* Intracellular galectin-9 activates inflammatory cytokines in monocytes[J]. *Genes Cells* ,2009 ,14(4):511-521
- Kawashima H, Masaki S, Kawamura M. Induction of HLA-A*33-restricted cytotoxic lymphocytes against renal cell carcinoma targeting galectin 9 and PINCH[J]. *Cancer Res*,2014,2(6):809-812
- Yang J, Zhu L, Cai Y, *et al.* Role of downregulation of galectin-9 in the tumorigenesis of gastric cancer[J]. *Int J Oncol* ,2014 ,45(3):1313-1320
- Zhang ZY, Dong JR, Chen YW, *et al.* Galectin-9 acts as a prognostic factor with antimetastatic potential in hepatocellular carcinoma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*,2012 ,13(6):2503-2509
- Liu FT, Yang RY, Saegusa J, *et al.* Galectins in regulation of apoptosis[J]. *Adv Exp Med Biol*,2011 ,705(1):431-442
- Zhang Q, Luan H, Wang L, *et al.* Galectin-9 ameliorates anti-GBM glomerulonephritis by inhibiting Th1 and Th17 immune responses in mice[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*,2014 ,306(8):822-832
- Meggyes M, Miko E, Polgar B, *et al.* Peripheral blood TIM-3 positive NK and CD8⁺ T cells throughout pregnancy: TIM-3/galectin-9 interaction and its possible role during pregnancy [J]. *PLoS One* ,2014 ,9(3):e92371
- Chan SW, Kallarakkal TG, Abraham MT. Changed expression of E-cadherin and galectin-9 in oral squamous cell carcinomas but lack of potential as prognostic markers[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*,2014,15 (5):2145-2152

- 15 Nobumoto A, Nagahara K, Oomizu S, *et al.* Galectin - 9 suppresses tumor metastasis by blocking adhesion to endothelium and extracellular matrices[J]. *Glycobiology*, 2008, 18(9): 735 - 744
 - 16 Bi S, Hong PW, Lee B, *et al.* Galectin - 9 binding to cell surface protein disulfide isomerase regulates the redox environment to enhance T - cell migration and HIV entry[J]. *Proc. Natl Acad. Sci*, 2011, 108(26): 10650 - 10655
 - 17 Thijssen VL, Rabinovich GA, Griffioen AW. Vascular galectins: regulators of tumor progression and targets for cancer therapy[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2013, 24(6): 547 - 558
 - 18 Griffioen AW, Thijssen VL. Galectins in tumor angiogenesis[J]. *Ann Transl Med*, 2014, 2(9): 90
 - 19 Glinskii OV, Sud S, Mossine VV, *et al.* Inhibition of prostate cancer bone metastasis by synthetic TF antigen mimic/galectin - 3 inhibitor lactulose - l - leucine[J]. *Neoplasia*, 2012, 14(1): 65 - 73
 - 20 Liu YM, Chen Y, Li JZ, *et al.* Up - regulation of Galectin - 9 in vivo results in immunosuppressive effects and prolongs survival of liver al-lograft in rats[J]. *Immunol Lett*, 2014, 162(11): 217 - 222
 - 21 Saresella M, Piancone F, Marventano I, *et al.* A role for the TIM - 3/GAL - 9/BAT3 pathway in determining the clinical phenotype of multiple sclerosis [J]. *FASEB J*, 2014, 28(11): 5000 - 5009
 - 22 Bellutti Enders F, van Wijk F, Scholman R, *et al.* Correlation of CX-CL10, tumor necrosis factor receptor type II, and galectin 9 with disease activity in juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheumatol* [J]. 2014, 66(8): 2281 - 2289
 - 23 Zhang Y, Jiang L, Zhang M, *et al.* Galectin - 9 induced myeloid suppressor cells expand regulatory T cells in an IL - 10 - dependent manner in CVB3 - induced acute myocarditis[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(3): 3356 - 3372
 - 24 Ashino Y, Chagan - Yasutan H, Egawa S, *et al.* Ebola virus disease: preparedness in Japan[J]. *Disaster Med Public Health Prep*, 2014, 17(11): 1 - 5
- (收稿日期: 2015 - 01 - 19)
(修回日期: 2015 - 02 - 05)

(上接第 168 页)

参考文献

- 1 Yamagata M, Sanes JR. Expanding the Ig superfamily code for laminar specificity in retina: expression and role of contactins[J]. *J Neurosci*, 2012, 32(41): 14402 - 14414
 - 2 Glenn I, Liu FY, Jie Zhang, *et al.* De novo copy number variants identify new genes and loci in isolated sporadic tetralogy of Fallot[J]. *Nat Genet*, 2009, 41(7): 931 - 935
 - 3 Cerrone M, Noujaim SF, Tolkacheva EG, *et al.* Arrhythmogenic mechanisms in a mouse model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia[J]. *Circ Res*, 2007, 101(2): 1039 - 1048
 - 4 Gong S, Zheng C, Doughty ML, *et al.* A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes. [J]. *Nature*, 2003, 425(2): 917 - 925
 - 5 Varro A, Balóti B. The role of the delayed rectifier component Iks in dog ventricular muscle and Purkinje fibre repolarization[J]. *physiol*, 2000, 523(1): 67 - 81
 - 6 Light PE, Cordeiro JM, French RJ. Identification and properties of ATP - sensitive potassium channels in myocytes from rabbit Purkinje fibres. [J]. *Cardiovasc Res*, 1999, 44(2): 356 - 369
 - 7 Wirtz S, Schuelke M. Region - specific expression of mitochondrial complex I genes during murine brain development [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18897
 - 8 Silverman ME, Grove D, Upshaw CB. Why does the heart beat? The discovery of the electrical system of the heart [J]. *Circulation*, 2006, 113(23): 2775 - 2781
 - 9 Sommer JR, Johnson EA. Cardiac muscle: A comparative study of Purkinje fibers and ventricular fibers[J]. *J Cell Biol*, 2012, 36(13): 497 - 498
 - 10 Dun W, Boyden PA. The Purkinje cell: 2008 style [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 45(7): 617 - 624
 - 11 Dvir M, Peretz A, Haitin Y, *et al.* Recent molecular insights from mutated IKS channels in cardiac arrhythmia[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2014, 15(3): 74 - 82
 - 12 Faivre JF, Forest MC, Gout B, *et al.* Effect on early afterdepolarizations and repolarization dispersion[J]. *Eur J Pharmacol*, 1999, 383(2): 215 - 223
 - 13 Pallante BA, Giovannone S, Fangyu L, *et al.* Contactin - 2 expression in the cardiac Purkinje fiber network[J]. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2010, 3(2): 186 - 194
 - 14 Yokoshiki H, Mitsuyama H, Ueno M, *et al.* Idiopathic reentrant right ventricular outflow tract tachycardia with presystolic potential of central pathway[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2010, 21(10): 1174 - 1177
 - 15 刘霄燕, 赵英杰, 楚建民, 等. 舒张期电位在右室流出道间隔部起源室性早搏射频消融中的初步认识[J]. *心血管微创医学杂志*, 2012, 1(4): 359 - 364
 - 16 李威, 李毅刚. 浦肯野纤维在室性心律失常发生和维持中的作用及机制[J]. *中华心血管病杂志*, 2011, 39(3): 1068 - 1070
 - 17 Yamada T, Kay GN. Optimal ablation strategies for different types of ventricular tachycardias [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2012, 9(9): 512 - 525
 - 18 Hachiya H, Aonuma K, Yamauchi Y, *et al.* Electrocardiographic characteristic of left ventricular outflow tract tachycardia[J]. *PACE*, 2010(8), 23: 1930 - 1933
 - 19 Scheinman MM. Role of the His - Purkinje system in the genesis of cardiac arrhythmia[J]. *Heart Rhythm*, 2010, 6(7): 1050 - 1058
 - 20 Bloch Thomsen PE, Johannessen A, Jons C, *et al.* The role of local voltage potentials in outflow tract ectopy[J]. *Europace*, 2010, 12(6): 850 - 860.
- (收稿日期: 2015 - 02 - 06)
(修回日期: 2015 - 02 - 15)