

# MK 中期因子参与消化道肿瘤进展的研究现状

周 坦 缪丹丹 杨 芳 杨之斌

**摘 要** MK 中期因子(Midkine)是一种肝素结合生长因子,越来越多的研究表明,其在各种肿瘤,尤其是消化道恶性肿瘤(如结直肠癌、肝癌、胃癌、胰腺癌等)中较正常组织都有高表达。MK 在促进肿瘤细胞耐药、抗失巢凋亡及神经浸润(PNI)中都有着重要作用;神经浸润被视为继淋巴结转移、直接蔓延、种植转移及血行转移之后肿瘤转移的第五大途径。肿瘤细胞可以通过肿瘤微环境中的一些小分子浸润到神经周围,包绕神经纤维,并侵入到神经束膜内进行局部转移。尽管肿瘤细胞神经浸润的具体机制目前还不甚清楚,但研究肿瘤细胞神经浸润十分必要。本文结合国内外的研究现状就 MK 促进消化道肿瘤进展的相关机制做一简要概述。

**关键词** 中期因子 消化道肿瘤 神经浸润 研究现状

**中图分类号** R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.06.040

恶性肿瘤(malignant tumor)被视为人类健康的头号杀手。近期,国家癌症中心发布了中国最新癌症数据,全国每天约有1万人确诊为癌症。其中消化道恶性肿瘤,如结直肠癌、肝癌、胃癌、胰腺癌等的发生率及病死率都高居前列。近年来,一些新的治疗癌症的方法不断被运用于临床。尽管对患者总体生存率取得了一定提升,但最终患者还是由于肿瘤耐药、转移、复发等一系列问题导致死亡。肿瘤的发生、发展是一个极其复杂的过程。其发病机制目前还不甚清楚。然而,现今肿瘤的“精准治疗”越来越为人们所重视。精准治疗的前提就是要不断探索肿瘤发病的具体机制。MK 中期因子(Midkine)是一种肝素结合生长因子, MK 可以通过多种机制促进消化道恶性肿瘤的进展<sup>[1,2]</sup>。如 MK 可以通过激活 NF- $\kappa$ B 信号分子,从而介导上皮间质转化(EMT),进而使结直肠癌细胞对 5-F 等结直肠癌的一线化学疗效(以下简称化疗)药产生耐药。MK 还可以通过激活 PI<sub>3</sub>K/AKT 信号通道促进肝癌细胞浸润及抗失巢凋亡。不仅如此, MK 还能通过调控 Trkb/BDNF 等神经营养因子及神经营养因子受体,促进胰腺癌细胞神经浸润。研究表明, MK 在促进消化道肿瘤的进展中扮演着极其重要的角色。因此,探讨 MK 与消化道肿瘤的相关机制十分必要。

## 一、MK 的概述

MK 是一种分泌型碱性肝素结合蛋白,由 10 个半胱氨酸残余物组成。它包含两个域,由二硫化键连接。N 端是细胞外分泌信号肽的关键,同时保护 C 端不受蛋白水解酶的降解。C 端可以与视黄酸(RA)相互作用,促进神经细胞生长发育,增强动脉内皮纤维蛋白溶解。MK 基因位于 11p11.2 中,由 5 个外显子和 4 个内含子组成。在不同的物种中, MK 基因是高度保守的。MK 的基因是在小鼠胚胎发生过程中首次被发现的。对 MK 的早期研究主要集中于它在胚胎发育中的作用。但随后,在成年生物体中也观察到了 MK 的表达。MK 基因表达受多种因素控制。MK 蛋白的过度表达已经被观察到与癌症有关。MK 在各种人类肿瘤中过度表达,尤其是消化道恶性肿瘤。另外 MK 还是一种神经营养因子,还可以通过介导 TrkB/BDNF、MMP1 等促进胰腺癌神经浸润<sup>[3]</sup>。

## 二、MK 与消化道肿瘤

MK 与多种消化道肿瘤密切相关。其在促进消化道肿瘤细胞侵袭、增殖、抗失巢凋亡及耐药等方面都发挥着重要的作用。

1. MK 可促进肝癌细胞抗失巢凋亡: MK 可以通过激活 PI<sub>3</sub>K/AKT/NF- $\kappa$ B/TrkB 信号通路,从而促进肝癌细胞抗失巢凋亡。Sun 等<sup>[4]</sup>的研究表明,肝癌细胞可以大量分泌 MK 于胞外。位于胞外的 MK 可以与定植于肝癌细胞膜表面的配体蛋白淋巴瘤激酶(ALK)结合。MK/ALK 结合后可将信号传递给肝癌细胞胞质内的 PI<sub>3</sub>K/AKT。被激活的 PI<sub>3</sub>K/AKT 能进一步激活下游的 NF- $\kappa$ B 并导致其进入肝癌细胞核

基金项目:国家自然科学基金资助项目(8156110161)

作者单位:650118 云南省肿瘤医院、昆明医科大学第三附属医院

通讯作者:杨之斌,教授,主任医师,硕士生导师,电子信箱:

yzblbab@163.com

内。NF- $\kappa$ B 再作用于肝癌细胞核内特定的靶基因,通过促进靶基因转录和翻译,合成新的靶蛋白。一方面促进肝癌细胞的增殖,另一方面抑制肝癌细胞的失巢凋亡。不仅如此,进入肝癌细胞核内的 NF- $\kappa$ B 还能作用于位于肝癌细胞膜表面的神经营养因子受体(TrkB),促使 TrkB 的数量升高。升高后的 TrkB 再与位于胞外的特定配体神经营养因子(BDNF)结合。TrkB/BDNF 复合物可以再作用于 PI<sub>3</sub>K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通道,从而进一步加强肝癌细胞的增殖及失巢凋亡抵抗。

2. MK 可促进结直肠癌细胞抗失巢凋亡:高表达 MK 的结直肠癌细胞同时伴随着 TrkB 的高表达。其可能机制也与 PI<sub>3</sub>K/AKT/NF- $\kappa$ B 轴的激活有关。Smit 等研究表明,高表达 MK/TrkB 可诱导结直肠癌细胞向梭形转变(由上皮向间质转化),并使细胞间失去紧密联系并向远处移动。当细胞失去原来的生存环境后,机体原本给细胞设定的凋亡程序就会失效<sup>[5]</sup>。此时,癌细胞就会形成失巢凋亡抵抗。其中最关键的因素可能是 MK/TrkB 诱导激活了 TWIST/SNAIL/ZEB 轴。被激活的 TWIST/SNAIL/ZEB1 轴接下来会诱导增殖蛋白激酶(MAPK)的激活并导致 EMT 的发生。发生 EMT 后的基质细胞会抑制 E-cadherin 的表达。E-cadherin 分子的胞质区高度保守,并与细胞内骨架相连,靠近 C 端的一半对于 Cadherin 分子介导的细胞黏附具有重要作用<sup>[6]</sup>。当 E-cadherin 分子表达下降后,细胞间的黏附作用会下降,从而导致肿瘤细胞向远处转移。并使细胞逃离机体设定的凋亡程序并形成凋亡抵抗。Bao 等<sup>[7]</sup>运用 RNAi 抑制 TWIST 的表达后, MK/TrkB 诱导结直肠癌细胞发生 EMT 也会减弱。Smit 等<sup>[8]</sup>对高表达 MK/TrkB 的肿瘤细胞运用 MEK 抑制剂后发现 TWIST、ZEB1 等分子会降低。这表明 MAPK 信号通道在 MK/TrkB 在诱导结直肠癌细胞发生 EMT 的过程中也占据着必不可少的作用。总而言之,在结直肠癌细胞中, MK 可以通过 PI<sub>3</sub>K/AKT/NF- $\kappa$ B 轴上调 TrkB,而增高的 TrkB 可以进一步激活 TWIST/SNAIL/ZEB1 导致 EMT 的发生并进一步抑制 E-cadherin 分子的表达。E-cadherin 分子表达下降还能使  $\beta$ -actin 蛋白离开细胞膜进入到细胞核内并作为转录因子作用于多种基因。 $\beta$ -actin 的移位可能是由于 APC 突变或者是由 CDX2 抑制所导致。 $\beta$ -actin 的移位接下来会导致 MMP、VEGF、P16、HMGA2 表达量的升高。MMP、VEGF 可降低细胞外基质并促进肿瘤细胞血管

生成<sup>[9]</sup>。P16、HMGA2 可抑制结直肠癌细胞的失巢凋亡。另一方面,高表达 MK/TrkB 的结直肠癌细胞还可以过度表达 ALDH1、ABCG5 等肿瘤干细胞分子标志物并通过激活 PI<sub>3</sub>K/AKT 轴抑制结直肠癌细胞的失巢凋亡<sup>[10]</sup>。PI<sub>3</sub>K/AKT 的激活一方面可以抑制促凋亡分子 Bad、Bim 的表达,另一方面还能促进抗凋亡分子 Bcl-2、Bcl-XL 的增高。二者均能加强结直肠癌细胞失巢凋亡抵抗。

3. MK 可抑制胆管肿瘤化疗敏感度:吉西他滨是胆管肿瘤最有效和最常用的化疗药物之一。近年来,胆管肿瘤却对吉西他滨产生的耐药性日趋明显。Lu 等<sup>[11]</sup>研究发现,在人的对吉西他滨产生耐药的胆管癌细胞中高表达 MK。而这些高表达的 MK 正是由耐药的胆管癌细胞所分泌。不仅如此,这些耐药的胆管癌细胞还可以分泌一些细胞因子,使邻近的对吉西他滨敏感的胆管癌细胞免遭其杀伤。EMT 可以通过各种机制促进肿瘤细胞对化疗药产生抵抗。包括调节肿瘤干细胞、抑制能诱导癌细胞凋亡的上皮生长因子酪氨酸激酶抑制剂、变更肿瘤微环境等。在胆管癌细胞中, MK 的高表达可以激活 Notch1 信号分子。Espinoza 等<sup>[12]</sup>研究发现, Notch 分子可以调节 EMT,从而促进肿瘤细胞侵袭和转移。因此胆管癌细胞对吉西他滨产生耐药的机制可能是胆管癌细胞首先分泌 MK, MK 再激活 Notch1 信号分子,被激活的 Notch1 信号分子接下来再介导 EMT,通过调节肿瘤干细胞、抑制能诱导癌细胞凋亡的上皮生长因子酪氨酸激酶抑制剂、变更肿瘤微环境等过程从而完成胆管癌细胞对吉西他滨的耐药。不仅如此,耐药的胆管癌细胞还能通过分泌一些细胞因子使邻近对化疗敏感的胆管癌细胞也产生耐药,如此形成恶性循环。

4. MK 可抑制结直肠癌化疗敏感度: MK 可抑制结直肠癌化疗敏感度。5-FU 是结直肠癌化疗方案(FOLFOX、FOLFIRI)中的常用药。近年来研究表明, MK 在结直肠癌细胞耐 5-FU 的过程中扮演着重要角色。MK 可以通过激活 NF- $\kappa$ B 信号通道而进一步介导肠癌细胞发生 EMT。最终抑制肠癌细胞对 5-FU 产生耐药。当运用 NF- $\kappa$ B 的抑制剂 IKK $\alpha$  处理肠癌细胞后,运用 Western blot 法检测 NF- $\kappa$ B 的量较正常组有明显下降。而肠癌细胞对 5-FU 的 IC50 比较对照组也有明显下降。Parvaneh 等研究表明, MK 还能激活 PI<sub>3</sub>K/AKT/mTOR 信号通道,抑制肠癌细胞对 5-FU 的敏感度。

5. MK 可以促进胰腺癌细胞增殖、转移:胰腺导

管腺癌(ductal adenocarcinoma of the pancrea, PDAC)是一种预后非常差的实体肿瘤。尽管 PDAC 的相关机制已经研究的比较成熟,但临床上治疗 PDAC 的有效手段依然很有限。Rawnaq 等<sup>[13]</sup>在研究 PDAC 的体外实验中表明,PDAC 细胞可以高表达 MK。而高表达的 MK 是由 TNF- $\alpha$  和 EGF 诱导产生。与此同时,当 MK 由 TNF- $\alpha$  和 EGF 诱导产生后可以与 PDAC 细胞表面的 Noth2 结合,进一步介导 EMT。最终促进 PDAC 的增殖和转移。

### 三、MK 与胰腺癌神经浸润(PNI)

肿瘤细胞转移的常规途径包括淋巴结转移、直接蔓延、种植转移及血行转移。近年来发现,肿瘤细胞还可以通过神经浸润,实现肿瘤细胞的远处转移<sup>[14]</sup>。神经浸润的观点最早是在 18 世纪中期被提出来的,但是至今其具体机制尚不明确。对于一些恶性肿瘤,如胰腺癌、结直肠癌,神经浸润标志着患者预后不佳<sup>[15]</sup>。肿瘤细胞神经浸润与很多因素有关,包括肿瘤细胞的性质及肿瘤细胞与细胞基质、神经、神经基质之间的相互作用<sup>[16-18]</sup>。腹腔内神经由 3 层被膜所覆盖。由外向内依次称为外膜、束膜和内膜<sup>[19]</sup>。肿瘤细胞可以通过肿瘤微环境中一些趋化因子向神经周围进行迁移。一旦肿瘤细胞迁移到神经周围便可以通过神经被膜间的一些间隙侵入到神经内,并沿着神经轴向远处浸润。Arese 等<sup>[20]</sup>研究表明,神经也可以通过其轴突作用于肿瘤细胞。肿瘤细胞处在一个肿瘤微环境中,在这个微环境中包括有白细胞介素、神经递质、神经营养因子等。肿瘤细胞的生长与肿瘤微环境密切相关。神经也可视为肿瘤微环境中的一员。神经可以通过轴突的生长,进入到肿瘤细胞周围,再通过释放神经递质,如肾上腺素、乙酰胆碱、5 羟色胺等再与肿瘤细胞表面相应的受体进行结合。如肾上腺素可以与肿瘤细胞表面的  $\beta$  受体结合,通过激活  $\beta$ AR - cyclic AMP - protein kinase A 通道并上调 VEGF 和 IL-6,从而促进肺癌、乳腺癌、前列腺癌及结直肠癌的神经浸润。乙酰胆碱则可以分别与肿瘤细胞表面的 M/N 样受体结合,通过激活 EGFR/ERK 通道及上调 cyclooxygenase-2 (COX-2) 和 VEGF 从而促进结肠癌、乳腺癌的神经浸润。

胰腺癌的特点是富含较密集的肿瘤基质和拥有大量的肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)。根据临床和流行病学调查,在多种肿瘤中,TAMs 和神经浸润有密切关系,其中就包括胰腺癌<sup>[21]</sup>。Zeng 等<sup>[21]</sup>研究表明,83% 的胰腺癌发生神经浸润且与 TAMs 的密度密切

相关。M-2 巨噬细胞被公认为是一种致癌前体细胞。进一步的理论研究表明,TAMs 促进胰腺癌转移及神经浸润可以通过释放一些激活剂或诱导癌细胞释放各种神经营养因子,包括 MK、Trkb 等。MK 也是一种神经营养因子,其在促进神经生长、发育及神经浸润的过程中有着重要作用。Huang 等<sup>[22]</sup>在探讨 MMP1 促进胰腺癌神经浸润的研究中发现,MMP1 可以通过诱导 MK 使 AKT 磷酸化,接下来通过刺激感觉神经释放 P 物质,最终促进胰腺癌神经浸润。Syndecan-3 是 MK 的一种高亲和性受体,当与 MK 特异性结合后可加速神经轴突的生长。Raulo 等在研究神经轴突生长的体外实验中证实,当分别运用 MK 和 Syndecan-3 的抑制剂后,神经轴突生长的速度会明显受到抑制。相关研究证明 PTN 作为 MK 的另一种特异性受体,当二者结合后在促进胰腺癌神经浸润方面也发挥着重要作用。Yao 等<sup>[23]</sup>在建立的胰腺癌神经浸润的体外模型中得出,胰腺癌神经浸润伴随着 MK 的高表达。MK 可与胰腺癌细胞表面的受体 ALK、LRP、integrin 结合,进一步激活 PI<sub>3</sub>K/MAPK 通道,一方面促进肿瘤细胞向神经迁移,另一方面促进神经轴突的生长。二者均能促进胰腺癌细胞的神经浸润。

综上所述,MK 在各种中度恶性肿瘤中较正常组织都有较明显的升高,在消化道肿瘤中更为明显。MK 与肿瘤细胞耐药、抗凋亡及神经浸润都有明显的相关性。本文详细介绍了 MK 在消化道肿瘤中促进肿瘤进展的相关机制。旨在归纳总结 MK 如何促进肿瘤发生、发展。并为将来研究针对 MK 的靶向药物提供参考。另外,神经浸润作为一种新的肿瘤转移途径,未来必将成为研究的热点。然而,神经浸润的具体机制目前还不甚清楚。MK 作为一种神经浸润的关键分子,其与神经浸润相关机制的探讨也将为后续进一步的研究指明方向。

### 参考文献

- 1 Gela A, Jovic S, Nordin SL, et al. Midkine in host defence [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(4): 859-869
- 2 Kadomatsu K, Kishida S, Tsubota S. The heparin-binding growth factor midkine: the biological activities and candidate receptors [J]. *J Biochem*, 2013, 153(6): 511-521
- 3 Li J, Ma J, Han L, et al. Hyperglycemic tumor microenvironment induces perineural invasion in pancreatic cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(6): 912-921
- 4 Sun B, Hu C, Yang Z, et al. Midkine promotes hepatocellular carcinoma metastasis by elevating anoikis resistance of circulating tumor cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(20): 2523-2535
- 5 Paoli P, Giannoni E, Chiarugi P. Anoikis molecular pathways and its

- role in cancer progression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833 (12): 3481 - 3498
- 6 Chen GT, Waterman ML. Cancer: leaping the E - cadherin hurdle [J]. *EMBO J*, 2015, 34(18): 2307 - 2309
  - 7 Bao W, Qiu H, Yang T, *et al.* Upregulation of TrkB promotes epithelial - mesenchymal transition and anoikis resistance in endometrial carcinoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e70616
  - 8 Smit MA, Peeper DS. Zeb1 is required for TrkB - induced epithelial - mesenchymal transition, anoikis resistance and metastasis [J]. *Oncogene*, 2011, 30(35): 3735 - 3744
  - 9 Li Z, Takino T, Endo Y, *et al.* Activation of MMP - 9 by membrane type - 1 MMP/MMP - 2 axis stimulates tumor metastasis [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(3): 347 - 353
  - 10 Luo WR, Gao F, Li SY, *et al.* Tumour budding and the expression of cancer stem cellmarker aldehyde dehydrogenase 1 in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Histopathology*, 2012, 61(6): 1072 - 1081
  - 11 Lu Y, Yan B, Guo H, *et al.* Effect of midkine on gemcitabine resistance in biliary tract cancer [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4): 2003 - 2011
  - 12 Espinoza I, Pochampally R, Xing F, *et al.* Notch signaling: targeting cancer stem cells and epithelial - to - mesenchymal transition [J]. *Onco Targets Ther*, 2013, 6(1): 249 - 259
  - 13 Rawnaq T, Dietrich L, Wolters - Eisfeld G, *et al.* The multifunctional growth factor midkine promotes proliferation and migration in pancreatic cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2014, 12(5): 670 - 680
  - 14 Yao J, Li WY, Li SG, *et al.* Midkine promotes perineural invasion in human pancreatic cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(11): 3018 - 3024
  - 15 Liebig C, Ayala G, Wilks JA, *et al.* Perineural invasion in cancer: a review of the literature [J]. *Cancer*, 2009, 115(15): 3379 - 3391
  - 16 Gil Z, Carlson DL, Gupta A, *et al.* Patterns and incidence of neural invasion in patients with cancers of the paranasal sinuses [J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2009, 135(2): 173 - 179
  - 17 Abiatari I, DeOliveira T, Kerkadze V, *et al.* Consensus transcriptome signature of perineural invasion in pancreatic carcinoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(6): 1494 - 1504
  - 18 Pergialiotis V, Pouliakis A, Parthenis C, *et al.* The utility of artificial neural networks and classification and regression trees for the prediction of endometrial cancer in postmenopausal women [J]. *Public Health*, 2018, 16(4): 1 - 6
  - 19 Cavel O, Shomron O, Shabtay A, *et al.* Endoneurial macrophages induce perineural invasion of pancreatic cancer cells by secretion of GDNF and activation of RET tyrosine kinase receptor [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(22): 5733 - 5743
  - 20 Arese M, Bussolino F, Pergolizzi M, *et al.* Tumor progression: the neuronal input [J]. *Ann Transl Med*, 2018, 6(5): 89
  - 21 Zeng L, Guo Y, Liang J, *et al.* Perineural invasion and TAMs in pancreatic ductal adenocarcinomas: review of the original pathology reports using immunohistochemical enhancement and relationships with clinicopathological features [J]. *J Cancer*, 2014, 5(9): 754 - 760
  - 22 Huang C, Li Y, Guo Y, *et al.* MMP1/PAR1/SP/NK1R paracrine loop modulates early perineural invasion of pancreatic cancer cells [J]. *Theranostics*, 2018, 8(11): 3074 - 3086
  - 23 Yao J, Li WY, Gao SG. The advances of Midkine with peripheral invasion in pancreatic cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(9): 2912 - 2917

(收稿日期:2018-08-08)

(修回日期:2018-09-04)

## 围绝经期动物模型建立方法的研究进展

杨溢锋 李 倩

**摘 要** 本文回顾分析了围绝经期动物模型研究的最新进展,比较了目前常用动物模型的优点和劣势,分析表明对于围绝经期动物模型制备方法的优劣判断,不但要从成本方面考虑,更重要的是卵巢功能的下降是否是逐渐下降,模型中卵巢发生的变化是否与正常女性围绝经期的生理变化相似。

**关键词** 围绝经期 绝经期 动物模型

**中图分类号** R71

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.06.041

围绝经期是女性自生育期的规律月经过渡到绝经即永久性无月经状态的阶段,包括从出现与卵巢功

能下降有关的内分泌、生物学和临床特征起至末次月经后一年。建立围绝经期动物模型,模仿人类自然围绝经期的卵巢功能变化,可以帮助研究围绝经期远期疾病和卵巢储备功能下降的发病机制。本文回顾分析了近年来常用的制备围绝经期动物模型的方法,通过比较各类模型的优势和劣势,以期寻找出制备围绝

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(17140901300)

作者单位:200030 上海中医药大学附属龙华医院妇科(杨溢锋),科技处(李倩)

通讯作者:李倩,主任医师,硕士生导师,电子信箱:drlj@163.com