

波形蛋白与恶性肿瘤侵袭转移关系的研究进展

李国炜 李海洋

摘 要 波形蛋白是参与细胞骨架调节生理和病理变化有关的中间丝蛋白家族成员,主要在间质细胞中表达。长期以来,波形蛋白主要作为间质细胞标志物而被研究,对其生物学功能及与肿瘤关系的研究较少。近年来的研究显示,波形蛋白不仅与维持细胞完整性相关,还和细胞的黏附性、运动性、血管生成及自身免疫密切相关。此外,在多种上皮细胞来源的肿瘤中存在波形蛋白异常表达,涉及肿瘤的侵袭、转移及预后。本文旨在综述波形蛋白生物学功能与肿瘤侵袭转移的相关研究进展。

关键词 侵袭 转移 波形蛋白 恶性肿瘤

中图分类号 R730.1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.12.004

侵袭转移是恶性肿瘤主要的生物学特征之一,也是临床肿瘤患者主要的致死因素。肿瘤的侵袭转移是一个多步骤、多因素参与的极其复杂的过程。从病理角度讲,肿瘤的侵袭转移是由肿瘤细胞从原发部位脱离,侵袭穿透基膜向周围间质浸润生长,穿过毛细血管或淋巴管与血小板聚集形成小瘤栓,进而随血液或淋巴液运送至靶器官着床增生,最终形成转移灶。从细胞分子水平讲,肿瘤的侵袭转移与肿瘤基因、肿瘤细胞黏附、细胞运动、肿瘤血管生成、细胞外基质降解及肿瘤微环境等因素相关。波形蛋白作为上皮间质转化(EMT)的间质细胞标志物是近年研究的主要热点。尤其是在上皮源性肿瘤细胞中的异常表达,通过临床病理分析显示其与肿瘤的侵袭能力、淋巴结转移及预后密切相关,但对其作用机制研究较少。在上皮间质转化过程中上皮细胞在特定的生理和病理状态下转化为具有迁移能力的间质细胞特性,是肿瘤细胞侵袭和转移关键的步骤。目前为止其作用机制仍不清楚。已知肿瘤发生上皮间质转化通过多种信号通路参与调控,如丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路、转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β)信号通路、Wnt/ β -catenin 信号通路、NF- κ B 信号通路、Notch 信号通路等,均可以引起波形蛋白的上调或下调,从而引起上皮间质转化表型的改变^[1]。波形蛋白作为这些信号通路的有效靶点之一,肿瘤的侵袭、

转移的发生、发展与波形蛋白的生物学功能密不可分。

一、波形蛋白的结构

波形蛋白是一种丰富并高度保守的Ⅲ型中间纤维蛋白之一,位于人染色体 10p13。主要包含 3 个区域:N 末端头结构域、中心杆状结构域和 C 末端尾结构域,由 466 个氨基酸残基组成^[2]。中心杆状结构域含有 α -螺旋区域,其中包含 4 个螺旋段(1A、1B、2A 和 2B),由 3 个非螺旋连接体(L1、L1-2 和 L2)连接,起始于螺旋段 1A 和连接体 L1^[3]。波形蛋白中间丝的基本结构单元是中心杆状结构域呈 α 螺旋卷曲组成的二聚体,即两个独立的中心杆状区域彼此缠绕形成二聚体,而侧翼是大小不同的非 α 螺旋 N 末端头结构域和 C 末端尾结构域^[4]。中心杆状结构域负责组装二聚体,是中间丝蛋白的构建模块,N 末端头结构域和 C 末端尾结构域被认为暴露在成熟的 10nm 中间丝蛋白(IF)的表面上,从而为其他蛋白和细胞器提供潜在的结合位点,如细胞核、线粒体^[5]。大部分的翻译后修饰位于 N 末端头结构域和 C 末端尾结构域,主要包括磷酸化和糖基化^[3]。波形蛋白中间丝曾被认为是静态的,仅仅是结构蛋白。但近年来的研究发现其是参与基本细胞过程的动态结构,这些过程将波形蛋白与许多疾病(癌症)联系起来^[6]。

二、波形蛋白的分布

波形蛋白主要表达于中胚层起源的间充质细胞中,如成纤维细胞、内皮细胞、血管平滑肌细胞、脂肪细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等;在性腺的特异性间质细胞中也表达,如睾丸 Sertoli 细胞、Leydig 细胞、卵巢颗粒细胞及黄体细胞;在绝大多数上皮细胞不表达,但少数上皮组织呈弱表达,包括子宫内膜腺体、肾上

基金项目:贵州省省校合作计划项目[黔科合 LH 字(2014)7118 号]

作者单位:550001 贵阳,贵州医科大学附属医院肝胆外科

通讯作者:李海洋,硕士生导师,主任医师,电子信箱:haiyang_li@sina.com

sina.com

腺皮质及甲状腺滤泡^[7]。在真核细胞内的波形蛋白呈放射性波浪状,与细胞核膜、细胞器、细胞膜连接,已知与其有关的细胞器有线粒体、高尔基体、溶酶体、内涵体^[8]。这对于维持细胞完整性及细胞内结构稳定性具有重要意义。有研究者认为波形蛋白也是一种分布于细胞外蛋白或细胞表面蛋白,这部分主要与病原体感染及自身免疫相关^[9-11]。但对其分泌及产生机制不清楚,有研究表明可能由活化的巨噬细胞分泌^[12]。有少数研究者认为,波形蛋白可能参与膜运输功能和细胞器转运功能^[13]。目前对于细胞外波形蛋白的研究较少,阐明其与自身免疫的关系及作用机制对肿瘤免疫治疗具有重要意义。

三、波形蛋白的表达与肿瘤的关系

波形蛋白曾经被视作为间质细胞来源的标志物。但近年来发现,在多种上皮来源的肿瘤细胞中波形蛋白高表达,包括胃肠道肿瘤、中枢神经肿瘤、妇科肿瘤、前列腺癌、乳腺癌、黑色乳腺癌、肝癌等^[14]。其过表达与肿瘤的生长、侵袭及预后不良密切相关^[15]。在体外实验中,波形蛋白的过表达使得肿瘤细胞侵袭和迁移能力增强,当下调波形蛋白时,肿瘤细胞的侵袭和迁移能力则下降^[16]。说明波形蛋白在肿瘤的侵袭、迁移过程中具有促进作用。这一过程可以通过 TGF- β 、Wnt、MAPK、EGFR、PI₃K 等信号通路调控^[17]。但波形蛋白作为信号通路下游蛋白是如何引起肿瘤细胞的侵袭迁移机制有待于进一步探索。

四、波形蛋白生物功能与肿瘤侵袭转移的关系

1. 波形蛋白参与细胞黏附及迁移:早期的研究表明在胚胎发育期间波形蛋白的表达与细胞迁移有关,但 Vimentin 基因敲除的小鼠在发育和繁殖能力方面没有明显的缺陷。近年来的研究揭示了波形蛋白与细胞运动有关的新功能,例如细胞极性的改变、细胞黏附性的调节以及参与细胞迁移信号蛋白的排列和转运等^[18]。在 EMT 期间,当波形蛋白表达上调时,细胞极性改变,运动性增强而黏附性减弱,从而通过单细胞和集体细胞迁移来提高入侵的效率^[19]。波形蛋白参与细胞黏附及迁移机制目前尚无明确的报道。有研究者认为波形蛋白是通过诱导整合素亲和力增加而调节细胞黏附性,即质膜下的波形蛋白与整联蛋白尾部的直接相互作用,并调节整合素-配体相互作用,H-Ras 信号转导诱导波形蛋白向周围核区的转位,而 Vimentin 是 H-Ras 介导的整合素激活抑制的靶点^[20]。纤维蛋白受体(整合素 $\alpha v \beta 3$)和胶原蛋白受体(整合素 $\alpha 2 \beta 1$)通过黏着斑整合波形蛋白、肌动

蛋白、整联蛋白,从而诱导细胞骨架重排,促使细胞形态改变和细胞迁移^[18]。有研究者认为细胞的黏附迁移是与细胞骨架蛋白之间的相互作用相关联,即肌动蛋白、微管和中间丝相互作用。在波形蛋白的螺旋 2B 结构域的 -YRKLLGEE- 序列与角蛋白-14 之间的相互作用以驱动角质形成细胞迁移,敲除 Vimentin 基因会破坏角质形成细胞迁移^[21]。波形蛋白丝可以通过下调 GEF-H1 和 RhoA 来抑制应力纤维组装和收缩性,而波形蛋白可通过调节其在 Ser886 上的磷酸化来控制 GEF-H1 活性^[22]。有研究者提出 CARMIL2 (capping protein, Arp2/3, myosin-I linker 2) 链接,CARMIL2 定位于迁移细胞前缘的动态波形蛋白丝,由 LRR 结构域介导,调节肌动蛋白加帽蛋白(CP),并结合到膜上,用于板状伪足形成,最终导致基质的降解,介导细胞迁移^[23]。这些研究提示波形蛋白可能为治疗细胞黏附及迁移介导肿瘤转移提供新的治疗靶点。

2. 波形蛋白与血管生成:波形蛋白具有促进血管生成作用和介导内皮细胞收缩力的调节^[24,25]。同时也参与调节血管生成平衡,具体为波形蛋白特异性结合 Notch 配体 D114,参与调节 Jagged1 介导的受体转运,激活特异性的 Notch 配体,平衡血管的生成^[26]。在小鼠肿瘤模型中靶向内皮细胞波形蛋白能够显著抑制肿瘤生长并降低微血管密度^[27]。波形蛋白被认为是一种肿瘤特异性血管生成标志物,PARP 抑制剂作为肿瘤血管生成的调节剂,能诱导内皮细胞中波形蛋白表达的下调,减少黑色素瘤中肿瘤血管的生成^[28]。醉茄素 A (withaferin A, WFA) 在体内表现出抗肿瘤和抗血管生成活性,WFA 靶向结合波形蛋白,通过共价修饰改变其半胱氨酸残基,主要位于高度保守的 α -螺旋卷曲螺旋 2B 结构域,诱导波形蛋白丝在细胞内外聚集,启动细胞凋亡^[29]。活性血管生成是大多数恶性肿瘤的标志,是恶性肿瘤生长、侵袭、转移中关键的步骤,抑制这一过程是治疗肿瘤的有前景的策略。

3. 波形蛋白与自身免疫:波形蛋白的分泌和表面表达是自身抗原递呈给免疫系统的可能途径^[11]。抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体在类风湿关节炎和强直性脊柱炎等免疫性疾病的早期诊断中具有较高特异性及敏感性^[30],这表明波形蛋白与免疫系统之间有一定关联。有研究者认为,在细胞骨架蛋白中,波形蛋白通过免疫监视成为肿瘤干细胞自我修复的靶点,人单克隆抗体 CLN-IgG 能识别在恶性肿瘤细胞表面表达的波形蛋白,由于波形蛋白位于质膜与细胞

核中染色质组装体连接的细胞质中,因此波形蛋白很可能通过某些膜受体之间的信号转导而在上调和下调中对细胞起重要作用。Cha 等^[31]研究显示波形蛋白反应性肿瘤免疫球蛋白与抗波形蛋白抗体在 HEp-2 细胞中共定位,共同定位于波形蛋白的 N-末端区域,说明波形蛋白是一种共有的自身抗原,在肿瘤免疫中,具有一定的识别标志作用。这可能是与波形蛋白 N 末端区域的 1B 结构域在激活正常 T 细胞后的细胞表面迅速表达有关。TGF- β 1 可诱导细胞外波形蛋白分泌,促进 CD4 T 细胞增生,同时波形蛋白诱导体外抗波形蛋白 IgG 的产生^[32]。这些研究表明在肿瘤免疫治疗方面,波形蛋白可能是一种新的免疫治疗方向。Brentville 等^[33]研究显示在肿瘤细胞中,瓜氨酸化波形蛋白经 MHC II 类分子的有效递呈诱导 CD4T 细胞分泌 IFN- γ (干扰素- γ),CD4T 细胞释放的 IFN- γ 具有直接的细胞毒性,其在体内产生有效的抗肿瘤反应。上述证据都表明波形蛋白是肿瘤免疫治疗可能的靶标。

五、展 望

肿瘤的侵袭转移是一个多步骤、多基因、多信号共同参与的复杂过程,因此仅仅考虑单一的因素很难去解释或阻断其发展过程。这在研究其发病机制方面带来巨大的挑战。临床上,肿瘤的侵袭转移直接关系到患者的预后,终止其发展过程,对肿瘤的治疗来说意义重大。波形蛋白是上皮间质转化中间质化标志物,在肿瘤的侵袭转移过程中发挥着重要的作用,主要表现在其参与调控细胞黏附、迁移、自身免疫及血管生成等生理功能。在探索肿瘤侵袭转移机制及肿瘤靶向治疗上,还需进一步阐明与波形蛋白相关信号的作用机制。综上所述,波形蛋白的对于研究肿瘤的发生、发展及研发阻断肿瘤侵袭转移的靶向药物具有重要意义。

参考文献

- 杜晓欣,赵素芬.与肿瘤转移相关的上皮间质转化信号通路研究进展[J].中国癌症防治杂志,2017,9(5):412-414
- E Fuchs A, Weber K. Intermediate filaments: structure, dynamics, function and disease [J]. Annu Rev Biochem, 1994, 63(1):345-382
- Chernyatina AA, Nicolet S, Aebi U, et al. Atomic structure of the vimentin central α -helical domain and its implications for intermediate filament assembly [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(34):13620-13625
- Ramm B, Stigler J, Hinczewski M, et al. Sequence-resolved free energy profiles of stress-bearing vimentin intermediate filaments [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(31):11359-11364
- Nekrasova OE, Mendez MG, Chernoiivanenko IS, et al. Vimentin intermediate filaments modulate the motility of mitochondria [J]. Mol Biol Cell, 2011, 22(13):2282-2289
- Ridge KM, Shumaker D, Robert A, et al. Methods for determining the cellular functions of vimentin intermediate filaments [J]. Methods Enzymol, 2016, 568:389-426
- 孙志福,高钟禹,张传森,等. Vimentin 在正常及肿瘤组织中分布的研究 [J]. 临床与实验病理学杂志,1991,7(2):125-127
- Minin AA, Moldaver MV. Intermediate vimentin filaments and their role in intracellular organelle distribution [J]. Biochemi Biokhim, 2008, 73(13):1453-1466
- Ise H, Kobayashi S, Goto M, et al. Vimentin and desmin possess GlcNAc-binding lectin-like properties on cell surfaces [J]. Glycobiology, 2010, 20(7):843-864
- Mak TN, Brüggemann H. Vimentin in bacterial infections [J]. Cells, 2016, 5(2):18-26
- Hsu PC, Liao YF, Lin CL, et al. Vimentin is involved in peptidylarginine deiminase 2-induced apoptosis of activated Jurkat cells [J]. Mol Cells, 2014, 37(5):426-434
- Mor-Vaknin N, Punturieri A, Sitwala K, et al. Vimentin is secreted by activated macrophages [J]. Nat Cell Biol, 2003, 5(1):59-63
- Styers ML, Kowalczyk AP, Faundez V. Intermediate filaments and vesicular membrane traffic: The odd couple's first dance? [J]. Traffic, 2005, 6(5):359-365
- Satelli A, Li S. Vimentin as a potential molecular target in cancer therapy or Vimentin, an overview and its potential as a molecular target for cancer therapy [J]. Cell Mol Life Sci, 2011, 68(18):3033-3046
- Liu LG, Yan XB, Xie RT, et al. Stromal expression of vimentin predicts the clinical outcome of stage II colorectal cancer for high-risk patients [J]. Med Sci Monit, 2017, 23:2897-2905
- Tadokoro A, Kanaji N, Liu D, et al. Vimentin regulates invasiveness and is a poor prognostic marker in non-small cell lung cancer [J]. Anticancer Res, 2016, 36(4):1545-1551
- Yu S, Yan C, Yang X, et al. Pharmacoproteomic analysis reveals that metapristone (RU486 metabolite) intervenes E-cadherin and vimentin to realize cancer metastasis chemoprevention [J]. Sci Rep, 2016, 6:22388-22406
- Chernoiivanenko IS, Minin AA, Minin AA. Role of vimentin in cell migration [J]. Ontogenez, 2013, 44(3):186-202
- Gan Z, Ding L, Burckhardt CJ, et al. Vimentin intermediate filaments template microtubule networks to enhance persistence in cell polarity and directed migration [J]. Cell Syst, 2016, 3(3):252-263
- Kim J, Yang C, Kim EJ, et al. Vimentin filaments regulate integrin-ligand interactions by binding to the cytoplasmic tail of integrin β 3 [J]. J Cell Sci, 2016, 129(10):2030-2042
- Velez delvalle C, Marschmoreno M, Castromuñozledo F, et al. Epithelial cell migration requires the interaction between the vimentin and keratin intermediate filaments [J]. Sci Rep, 2016, 6(6):24389-24399
- Jiu Y, Peränen J, Schaible N, et al. Vimentin intermediate filaments control actin stress fiber assembly through GEF-H1 and RhoA [J]. J Cell Sci, 2017, 130(5):892-902

(转第4页)

是让肿瘤医院回归综合医院,在整合医学观念指导下对各种肿瘤患者进行综合治疗和康复。据 2018 年 1 月 5 日《健康报》报道,目前我国共有 135 家肿瘤专科医院,1668 家综合医院设立了肿瘤科,然而目前只有不到 50% 的医院开展多学科协作,而通过多学科协作制定综合治疗方案的不到 10%。

七、必须下大力气做好癌症的预防工作

努力做好各种疾病,尤其是慢性病的预防大家都很认可,但是多年来一直没有得到应有的重视,从卫生行政管理官员到医生乃至大众层面无不如此。这个问题在癌症这个领域尤其显得突出和重要。为什么社会在前进,现代科学技术飞速发展,各种癌症,尤其是肺癌却不断增多。我们不得不反思我们的健康疾病管理策略上是否出了问题。最近美国心脏病协会发表了一篇文章,其中有一个生动的比喻,文章说如今的医生都好像聚集在一条泛滥成灾的河流下游,每天花费大量的经费,使用各种打捞落水者的先进技术,同时还不断地苦练打捞落水者的本领,结果事与愿违,一大半落水者都遇难了,而被打捞上来的人也是奄奄一息,更糟糕的是落水者却越来越多。事实上与其在下游打捞落水者,还不如到上游去筑牢堤坝让河水不再泛滥。作为医生不能只满足于“兵来将挡,水来土掩”的局面,应当防患于未然,避免更多的人落水。目前的关键在于除了进一步加大宣传力度,提高人们的认识以外,政府尤其是各级卫生行政管理机构必须下决心拿出具体得力措施从根本上解决癌症的预防问题,包括切实控烟,减少雾霾,保证水源和食

品安全,加强体育锻炼以及提高癌症的早期诊断水平。要想真正实现防控癌症,防控的战线必须前移,政府、医生和新闻媒体应当把权威的科学信息传播给大众,把健康知识转变为老百姓的健康行为,政府要在预防筛查方面加大投入,切实提高癌症的早期诊断和早期治疗率。

参考文献

- 1 汤钊猷. 控癌战而非抗癌战[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2017
- 2 菠萝. 癌症·真相[M]. 北京:清华大学出版社,2015
- 3 张大庆. 医学人文[M]. 北京:人民卫生出版社,2016:116-117
- 4 邓世超,胡成平. 生物标志物早期诊断肺癌研究进展[M]. 北京:人民卫生出版社,2017:318-319
- 5 刘志勇,刘善荣. 循环肿瘤细胞在临床诊疗中的问题与展望[J]. 中华检验医学杂志,2017,40(8):569-572
- 6 Khan MI, Czarnecka AM, Duchnowska R, *et al.* Metastasis – initiating cells in renal cancer[J]. *Curr Signal Transduct ther*, 2014, 8(3): 240-246
- 7 Hardingham JE, Groverp, Winter MA, *et al.* Detection and Clinical Significance of circulating tumor in colorectal cancer – 20 years of progress molecular[J]. *Molecular Medicine*, 2015, 21(1):s25-31
- 8 Harryman WL, Hinton JP, Rubenstein CP, *et al.* The cohesive Metastasis Phenotype in Human prostate cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1866(2):221-231
- 9 Van Berckelaer C, Brouwers AJ, Peeters DJ, *et al.* Current and future role of circulating tumor cells in patients with epithelial ovarian cancer [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2016, 42(12):1772-1779
(收稿日期:2018-08-10)
(修回日期:2018-08-30)
- 23 Lanier MH, Kim T, Cooper JA. CARMIL2 is a novel molecular connection between vimentin and actin essential for cell migration and invadopodia formation [J]. *Mol Biol Cell*, 2015, 26(25):4577-4587
- 24 Jørgensen ML, Møller CK, Rasmussen L, *et al.* An anti vimentin antibody promotes tube formation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):3576-3584
- 25 Selma OM, Stefanie R, Michael W, *et al.* Plectin reinforces vascular integrity by mediating crosstalk between the vimentin and the actin networks [J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(22):4138-4150
- 26 Rose ML. Role of anti-vimentin antibodies in allograft rejection [J]. *Hum Immunol*, 2013, 74(11):1459-1462
- 27 van Beijnum JR, Dings RP, Van d LE, *et al.* Gene expression of tumor angiogenesis dissected: specific targeting of colon cancer angiogenic vasculature [J]. *Blood*, 2006, 108(7):2339-2348
- 28 Rodríguez MI, Peralta-Leal A, O'Valle F, *et al.* PARP-1 regulates metastatic melanoma through modulation of vimentin-induced malignant transformation [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(6):e1003531
- 29 Dave JM, Kang H, Abbey CA, *et al.* Proteomic profiling of endothelial invasion revealed receptor for activated C kinase 1 (RACK1) complexed with vimentin to regulate focal adhesion kinase (FAK) [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(42):30720-30733
- 30 邢玉荣,海蛟,杨静,等. 抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体对类风湿关节炎的诊断价值 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2016, 30(8):772-774
- 31 Cha SC, Qin H, Kannan S, *et al.* Nonstereotyped lymphoma B cell receptors recognize vimentin as a shared autoantigen [J]. *J Immunol*, 2013, 190(9):4887-4898
- 32 Li FJ, Suroli R, Li H, *et al.* Autoimmunity to vimentin is associated with outcomes of patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *J Immunol*, 2017, 199(5):1596-1605
- 33 Brentville VA, Metheringham RL, Gunn B, *et al.* Citrullinated vimentin presented on MHC-II in tumor cells is a target for CD4⁺ T cell-mediated antitumor immunity [J]. *Cancer Res*, 2015, 76(3):548-560
(收稿日期:2018-01-23)
(修回日期:2018-01-30)

(接第 14 页)