

RhoC 与恶性肿瘤的侵袭转移

邱兴烽^{1,2} 综述 王效民² 殷平³ 审校

(1. 福建医科大学, 福建 福州 350004; 2. 厦门中山医院肝胆外科, 福建 厦门 361004; 3. 厦门中山医院病理科, 福建 厦门 361004)

摘要: RhoC GTP酶是 Ras超家族小分子量 G蛋白成员, 近来许多研究表明 RhoC参与了恶性肿瘤的发生和发展, 同时 RhoC的过量表达与恶性肿瘤的侵袭转移密切相关。对 RhoC的深入研究有助于进一步判断 RhoC在恶性肿瘤侵袭转移中所扮演的角色, 为肿瘤的治疗提供新的依据。

关键词: RhoC; 肿瘤; 侵袭; 转移

中图分类号: R73-37

文献标识码: A

文章编号: 1001-1773(2005)02-0136-04

研究表明, Rho GTP酶家族在调节细胞运动过程中起着重要作用, 同时最近大量研究显示 RhoC GTP酶的过量表达与肿瘤的侵袭转移密切相关。目前 RhoC与恶性肿瘤的关系已成为研究热点。

1 RhoC的结构和功能

Rho GTP酶是 Ras超家族小分子量 G蛋白的成员, 目前已发现包括 Rho (RhoA, RhoB, RhoC), Rac, cdc42, Rnd, RhoD, TTF等 6个亚家族共 22种成员蛋白^[1]。这些成员蛋白在许多重要的细胞活动中起作用, 如参与基因转录、细胞周期过程的调控, 并与细胞凋亡、肿瘤侵袭等密切相关。其中的 RhoC基因定位于 1p13-p21, RhoC蛋白含 193个氨基酸, 与 RhoA蛋白有 92%的同源性, 与 RhoB有 85%的同源性。氨基酸序列的不同主要位于羧基端; 在 RhoC和 RhoA不同的 17个氨基酸中有 9个位于最后 16个氨基酸内。Northern blot显示 RhoC的 mRNA在众多组织和细胞中表达。

肿瘤细胞的移动包括细胞前进端质膜的突起; 前进端与胞外基质新的黏附位点的形成; 尾端与旧黏附点的脱离; 最后以细胞内肌动球蛋白为基础的细胞骨架收缩促使细胞整体向前移动。研究表明 Rho刺激、调节纤维母细胞及其他一些黏附细胞的肌动蛋白张力纤维和局灶性黏附, 介导肌动蛋白结构重组, 通过调节肌球蛋白轻链磷酸化, 使肌球蛋白和肌动蛋白丝相互作用, 形成收缩性的肌动-球蛋白束, 最终导致癌细胞极性消失及促进细胞运动^[2,3]。RhoC则能通过调节细胞骨架蛋白来加快细胞迁移的这些步骤^[4,5], 例如在黑色素瘤细胞的转移

和扩散中 RhoC蛋白是必需的^[4]。还有人推测 Rho是通过升高磷脂酰肌醇二磷酸 (PIP₂)水平来促进肌动蛋白的重组。

和 Ras超家族的所有成员一样, RhoC在非活性 GDP结合形式和活性 GTP结合形式之间循环, 与 GDP结合游离于胞浆中, 与 GTP结合作用于细胞内的效应分子。但和 Ras不同的是 RhoC极少突变^[6], 更多的是表达水平上的异常。通过使用基因芯片技术对比高转移性和低转移性黑色素瘤细胞, 发现前者 RhoC明显升高^[4]; Suwa等^[7]也发现 RhoC的过量表达与胰腺导管癌的分级相关。研究显示, 在恶性肿瘤的转变中 Rho蛋白与 GTP或 GDP结合形式的转换起着重要作用, 而 RhoC的过量表达则可能加快 GTP与 GDP的循环转换过程。

2 RhoC与恶性肿瘤的侵袭转移

2.1 RhoC与肺癌的侵袭转移 Shikada等^[8]对 49例非小细胞肺癌患者标本进行免疫组织化学的检测, 发现无论是鳞癌还是腺癌, 癌细胞胞质中都出现 RhoC蛋白的较深染色, 而在正常肺上皮或肿瘤组织的基质细胞中未能检测到 RhoC蛋白的表达, 进一步通过 Real-time RT-PCR法显示伴有淋巴结浸润肺癌的患者 RhoC mRNA水平明显高于无淋巴结浸润者 ($P=0.002$), 同样在伴有血管转移或胸膜转移的非小细胞肺癌中也有类似发现, 从而首次提出 RhoC mRNA的表达水平与非小细胞肺癌侵袭转移能力呈正相关关系。对鼠的肺癌模型进行基因转导研究, 也发现 RhoC在肺癌转移中起关键性作用。RhoC过度表达组动物纵膈淋巴结转移显著增加, 相

收稿日期: 2004-11-24

修回日期: 2005-01-30

作者简介: 邱兴烽 (1976-), 男, 福建连城人, 硕士, 主要从事肝癌侵袭转移方面的研究。

反,显性失活 Rho (dominant-negative Rho, dnRho)过表达组动物纵膈淋巴结转移的大小明显减少,重量也明显减轻。在体外迁移和侵袭实验中,RhoC的过表达提高了迁移和侵袭能力(后者比前者明显),而过表达 dnRho能同时抑制迁移和侵袭^[9]。这些结果表明,RhoC可能通过调节细胞移动来促进肺癌的转移。

2.2 RhoC与乳腺癌的侵袭转移 越来越多的证据表明,RhoC的表达水平与乳腺癌的恶性程度及其侵袭转移密切相关,90%以上的炎性乳癌(inflammatory breast carcinoma, BC)都出现 RhoC GTP酶的过度表达^[10-12]。Kleer等^[10]通过免疫组织化学法对比乳腺正常组织、良性及恶性乳腺肿瘤组织中 RhoC蛋白的表达情况发现,RhoC在正常组织、纤维囊性变、不典型增生或导管内癌中都不表达或弱表达,但在 118例浸润癌中有 36例表达,且与肿瘤分期明显相关($P=0.01$)。实验表明 RhoC检测具有转移潜能乳癌的特异性达 92%,敏感性达 43%,它将成为乳腺癌新的预后判定指标。将因过表达 RhoC GTP酶而具有运动、侵袭表型的人乳腺上皮细胞(human mammary epithelial cells, HME)注入裸鼠,可以形成广泛转移癌,说明 RhoC在 BC的侵袭性表型中起特异作用,与乳腺癌的侵袭性行为呈正相关^[13]。然而也有不同的观点,Tupin等^[14]发现 RhoC在所有 BC中都表达,但只有 9.4%(3/32)的是过度表达(超过正常乳腺组织表达量 3倍以上即认为是过度表达^[15]),RhoC的过度表达与其他类型的乳腺癌并无明显区别,这与以前的结论是不同的^[11]。

2.3 RhoC与肝癌的侵袭转移 肝癌的转移复发是影响肝癌预后最重要的因素,也是肝癌研究中最重要的一环。研究提示,Rho相关蛋白在肝癌的侵袭转移中起重要作用^[16,17]。Wang等^[18,19]通过 RT-PCR,Western blot和 PCR-SSCP法对肝癌患者组织标本进行检测,发现肝癌组织中 RhoC mRNA和蛋白表达水平高于癌旁肝组织;低分化的肝癌组织中高于高分化的肝癌组织;肝外转移组织中的表达高于相应肝内原发癌组织;过量表达 RhoC mRNA和蛋白的肝癌更易发生静脉浸润和肝外转移。这些结果说明 RhoC不但和肝癌的恶性程度有关,而且与肝癌的侵袭转移密切相关。同时实验还证明 RhoC并非通过基因突变发挥作用,Oxford等^[6]的研究得到了相似的结论。Okabe等^[20]利用 cDNA 芯片技术发现 RhoC与肝癌的血管侵袭和肿瘤去分化相关,可

以通过减少 RhoC的表达来控制 Rho的信号通路从而达到抑制肿瘤侵袭与转移的目的。研究显示,在肝癌的肝内转移中,由 Rho及 P160 Rho相关丝-苏氨酸蛋白激酶(Rho-associated serine-threonine protein kinase, ROCK)信号通路调节细胞的运动,P160 ROCK特异性抑制剂 Y-27632能显著降低肝癌的肝内转移,进一步证实了 Rho/ROCK信号通路在肝癌肝内转移中的重要作用^[17],也为肝癌的基因治疗提供了新的依据。

2.4 RhoC与消化系统其他肿瘤的侵袭转移 早在 1998年,Suwa等^[7]就发现在胰腺导管腺癌组织中,RhoC mRNA的水平比非癌组织高,而且有周围神经浸润或淋巴结转移的癌组织 RhoC基因表达明显高于无这些表现的癌组织。从临床资料看,RhoC的过量表达和胰腺癌患者的预后明显相关:表达水平高即预后差($P<0.05$)。Kondo等^[21]通过对胃癌的研究也发现了类似结果。使用 RT-PCR法对 51例胃癌组织进行检测,发现 RhoC在伴有转移的胃癌中的表达水平明显高于无转移的胃癌,而无论在伴有转移还是不伴有转移的胃癌中,RhoC的表达水平都明显高于正常胃黏膜中的表达水平。同时检测胃癌细胞株中 RhoC mRNA的表达,结果相同,说明 RhoC基因可能与胃癌的转移有关,将有可能成为判断胃癌转移潜能较好的基因指标。然而也有与之相反的结论,Pan等^[22]通过对 53例胃癌患者癌组织标本进行分析,发现 RhoA mRNA的高水平表达与胃癌高的分期及低分化密切相关,而 RhoC mRNA在胃癌组织中的表达与癌旁正常胃组织的差异无统计学意义,提示 RhoC与胃癌的发生及其转移表型无关。

2.5 RhoC与部分泌尿生殖系统肿瘤的侵袭转移 膀胱癌也是临床常见的恶性肿瘤,极易复发与转移。对 107名膀胱癌患者进行研究,发现在膀胱癌组织及转移性淋巴结中,RhoC的蛋白表达明显高于癌旁正常膀胱组织和正常的淋巴结,而且 RhoC的高表达与膀胱癌的低分化性、肌层侵犯、淋巴结转移以及存活期短有关,同时也证实在膀胱癌中 RhoA, RhoC和 ROCK 3种蛋白表达量呈正相关^[23]。这说明 Rho/ROCK通路同样在膀胱癌的侵袭转移中起着重要作用。最近的研究还表明,RhoC基因与卵巢癌的分期与转移有关。Horiuchi等^[24]检测 RhoC在卵巢良性肿瘤、卵巢癌及癌旁组织中的表达,发现卵巢癌中 RhoC mRNA水平明显高于卵巢良性肿瘤,且恶性程度高的 RhoC mRNA水平明显高于恶性程度低

者(即在 III+IV 期中的水平高于 I+II 期),伴转移的 *RhoC* mRNA 水平明显高于原发性卵巢癌,再次提示 *RhoC* 的表达水平可反映肿瘤的转移潜能。

2.6 *RhoC* 与黑色素瘤的侵袭转移 2000 年 Clark 等^[4]在研究黑色素瘤的侵袭转移表型时发现 *RhoC* 与之有密切联系,从而掀起了 *RhoC* 与恶性肿瘤转移关系的研究热潮。黑色素瘤被诊断出来时,20% 患者已有转移。黑色素瘤内在的高转移率,使它成为研究肿瘤转移的理想模型。研究显示高转移性黑色素瘤 *RhoC* 的表达明显高于低转移性黑色素瘤,且 *RhoC* 转染低转移能力的黑色素瘤细胞 A375P 后肿瘤细胞的运动和浸润能力增强,肺转移结节数目增加;通过 *Rho* 显性失活突变体抑制 *RhoC* 表达则明显抑制高转移细胞株的转移性能。Collisson 等^[25]的研究结果也与之相同。*RhoC* 能如此明显的提高低转移性细胞的运动和侵袭能力,而通过抑制 *Rho* 通路就能降低黑色素瘤细胞的运动侵袭能力,可见 *RhoC* 在黑色素瘤侵袭转移中扮演着关键的角色^[26],表明 *RhoC* 可能成为治疗肿瘤侵袭转移的靶分子。

3 *RhoC* 促肿瘤转移的机制

众多实验表明,*RhoC* 通过调控细胞迁移的多个方面,参与肿瘤转移的全过程。*RhoC* 促肿瘤转移的机制可能如下^[18]:破坏细胞极性,这在上皮-间质转化中起重要作用,在许多侵袭性肿瘤中可观察到;使细胞丧失黏附连接;提高细胞运动能力及重塑细胞外基质能力,使肿瘤细胞具有局部浸润性。Ikoma 等^[9]发现过度表达 *RhoC* 能导致 *MMP-2*, *MMP-9*, *MT1-MMP* 和 *TM2-2* 等的 mRNA 表达的显著升高,反之过表达 *dnRho* 能降低上述基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的 mRNA 表达水平。运用酶谱分析法也证实了过度表达 *RhoC* 不但明显上调 *MMP-2* 和 *MMP-9* 的酶原表达(失活状态),还明显上调激活状态的 *MMP-2*,从而首次揭示了 *RhoC* 和 MMPs 在恶性肿瘤中的关系,并提出了 *RhoC* 作用的新机制:*RhoC* 不但能明显上调 MMPs 的表达水平,同时也能增加 MMPs 的活性,使其降解细胞外基质能力增强,从而导致肿瘤侵袭活性的增强;增加血管生成因子以促进肿瘤血管生成,增加肿瘤细胞进入血管的可能性。van Golen 等^[13,27]认为 *RhoC* GTP 酶在促进 BC 血管生成中起到了重要作用。在转染 *RhoC* 的 HME 条件培养基中,VEGF, bFGF, L-6, L-8 等的表达水平明显升高;通过导入 *C₃*

外转移酶而抑制 *RhoC* 的功能,从而使 HME-*RhoC* 转染子和 BC 细胞株中血管生成因子的产物显著降低,这说明了 *RhoC* GTP 酶的过度表达能特异而直接的通过 BC 细胞来控制血管生成因子的合成^[27],从而促进肿瘤的侵袭和转移。当然 *RhoC* 依赖的侵袭转移的准确机制还有待深入研究。

现有的众多研究都表明 *RhoC* 参与了恶性肿瘤的发生和发展,同时 *RhoC* 基因的过量表达与恶性肿瘤的侵袭和转移密切相关,因此研究 *RhoC* 在恶性肿瘤侵袭转移中的作用具有重大意义。随着对 *RhoC* 研究的深入,*RhoC* GTP 酶的作用机制将进一步得以明确,相信 *RhoC* 将有可能成为判断恶性肿瘤侵袭转移性能新的指征,成为临床上判断恶性肿瘤患者预后的一个新指标,同时也为指导恶性肿瘤的治疗带来新希望。

参 考 文 献

- 01 Aspenstrom P, Fransson A, Saras J. Rho GTPases have diverse effects on the organization of the actin filament system[J]. *Biochem J*, 2004, 377 (Pt 2): 327-337.
- 02 Machesky LM, Hall A. Rho: a connection between membrane receptor signalling and the cytoskeleton[J]. *Trends Cell Biol*, 1996, 6 (8): 304-310.
- 03 Linda VA, Crislyn DS. Rho GTPases and signaling networks[J]. *Genes Dev*, 1997, 11 (18): 2295-2322.
- 04 Clark EA, Golub TR, Lander ES, et al. Genomic analysis of metastasis reveals an essential role for *RhoC* [J]. *Nature*, 2000, 406 (6795): 532-535.
- 05 Ridley AJ. Rho-GTPases and cell migration[J]. *J Cell Sci*, 2001, 114 (15): 2713-2722.
- 06 Oxford G, Theodorescu D. Ras superfamily monomeric G proteins in carcinoma cell motility[J]. *Cancer Letters*, 2003, 189 (2): 117-128.
- 07 Suwa H, Ohshio G, Inamura T, et al. Overexpression of the *Rhoc* gene correlates with progression of ductal adenocarcinoma of the pancreas[J]. *Br J Cancer*, 1998, 77 (1): 147-152.
- 08 Shikada Y, Yoshino I, Okamoto T, et al. Higher expression of *RhoC* is related to invasiveness in non-small cell lung carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9 (14): 5282-5286.
- 09 Ikoma T, Takahashi T, Nagano S, et al. A definitive role of *RhoC* in metastasis of orthotopic lung cancer in mice[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10 (3): 1192-1200.
- 10 Kleer CG, VanGolen KL, Zhang YH, et al. Characterization of *RhoC* expression in benign and malignant breast disease [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160 (2): 579-584.
- 11 van Golen KL, Davies S, Wu ZF, et al. A novel putative low-affinity insulin-like growth factor-binding protein, LBC (Lost in inflammatory breast cancer), and *RhoC* GTPase correlate with the inflammatory breast cancer phenotype[J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5 (9): 2511-

- 2519.
- 12 Van den Eynden GG, Van der Auwera I, Van Laere S, et al Validation of a tissue microarray to study differential protein expression in inflammatory and non-inflammatory breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2004, 85(1): 13-22
- 13 Van Golen KL, Wu ZF, Qiao XT, et al RhoC GTPase, a novel transforming oncogene for human mammary epithelial cells that partially recapitulates the inflammatory breast cancer phenotype [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(20): 5832-5838.
- 14 Tupin E, Bièche I, Bertheau P, et al Increased incidence of ERBB2 overexpression and TP53 mutation in inflammatory breast cancer[J]. *Oncogene*, 2002, 21(49): 7593-7597.
- 15 Bièche I, Onody P, Laurendeau I, et al Real-time reverse transcription-PCR assay for future management of ERBB2-based clinical applications[J]. *Clin Chem*, 1999, 45(8): 1148-1156.
- 16 Genda T, Sakamoto M, Ichida T, et al Cell motility mediated by Rho and Rho-associated protein kinase plays a critical role in intrahepatic metastasis in human hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 1999, 30(6): 1027-1036.
- 17 Takamura M, Sakamoto M, Genda T, et al Inhibition of intrahepatic metastasis of human hepatocellular carcinoma by Rho-associated protein kinase inhibitor Y-27632 [J]. *Hepatology*, 2001, 33(3): 577-581.
- 18 Wang W, Yang LY, Huang GW, et al Genomic analysis reveals RhoC as a potential marker in hepatocellular carcinoma with poor prognosis[J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(12): 2349-2355.
- 19 Wang W, Yang LY, Yang ZL, et al Expression and significance of RhoC gene in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(9): 1950-1953.
- 20 Okabe H, Satoh S, Kato T, et al Genome-wide analysis of gene expression in human hepatocellular carcinomas using cDNA microarray: identification of genes involved in viral carcinogenesis and tumor progression [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 2129-2137.
- 21 Kondo T, Sentani K, Oue N, et al Expression of RhoC is associated with metastasis of gastric carcinoma [J]. *Pathobiology*, 2004, 71(1): 19-25.
- 22 Pan YL, Bi F, Liu N, et al Expression of seven main Rho family members in gastric carcinoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 315(3): 686-691.
- 23 Kamai T, Tsujii T, Arai K, et al Significant association of Rho/ROCK pathway with invasion and metastasis of bladder cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(7): 2632-2641.
- 24 Horiuchi A, Inai T, Wang C, et al Up-regulation of small GTPases, RhoA and RhoC, is associated with tumor progression in ovarian carcinoma [J]. *Lab Invest*, 2003, 83(6): 861-870.
- 25 Collision EA, Kleer C, Wu M, et al A torvastatin prevents RhoC isoprenylation, invasion, and metastasis in human melanoma cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(10): 941-948.
- 26 Carr KM, Bittner M, Trent JM. Gene-expression profiling in human cutaneous melanoma [J]. *Oncogene*, 2003, 22(20): 3076-3078.
- 27 Van Golen KL, Wu ZF, Qiao XT, et al RhoC GTPase overexpression modulates induction of angiogenic factors in breast cells [J]. *Neoplasia*, 2000, 2(5): 418-425.

膜联蛋白 A1 与肿瘤

张敏 曹云山 综述 朱任之 审校
(兰州大学医学部病理教研室, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 膜联蛋白 A1 (annexin A1, ANXA1) 是膜联蛋白超家族中的一员, 它参与细胞信号转导、分化及凋亡等多种重要的生命过程。其表达在肿瘤组织及癌前病变中与在相应的正常组织中相比有差异, 其与肿瘤的发生、发展、诊断及治疗密切相关。

关键词: 膜联蛋白 A1; 肿瘤; 细胞信号转导

中图分类号: R73.051; R341

文献标识码: A

文章编号: 1001-1773(2005)02-0139-04

膜联蛋白 (annexins) 是一类结构相关钙依赖的磷脂结合蛋白超家族, 约占细胞总蛋白的 2%, 在细胞中参与膜转运及膜表面一系列依赖于钙调蛋白的活动, 包括囊泡运输、胞吐作用中的膜融合、信号转

导及钙离子通道的形成, 并调控炎症反应、细胞分化和细胞骨架蛋白间的相互作用等。Annexins 超家族具有保守的中心结构域和特异的 N 端序列。中心结构域由 70 个氨基酸残基组成, 以钙离子依赖的方式

收稿日期: 2004-12-06

修回日期: 2005-02-28

作者简介: 张敏 (1978-), 女, 陕西韩城人, 硕士研究生, 主要从事肿瘤病理学方面的研究。