

癌调蛋白 (Oncomodulin) 与肿瘤

于维平 于树玉

(中国医学科学院肿瘤研究所, 北京)

当把培养液中的 Ca^{++} 降低到 0.02mM 时, 就可以把正常非转化细胞的分裂阻止在 G_1/S 的过渡期 (G_1/S transition), 这是一种普遍的现象。但低 Ca^{++} 对于各种肿瘤细胞的增殖却几乎没有影响。 Ca^{++} 可以控制细胞中 DNA 合成的启动, 在细胞增殖的过程中起很重要的调节作用。 Ca^{++} 的调节作用主要是通过细胞中的钙结合蛋白 (Ca^{++} -binding Protein) 或称为钙调蛋白 (Calmodulin, CaM) 执行的。这种 CaM 在生物界是普遍存在的, 它与 Ca^{++} 的复合物调节着细胞中的很多环节。有人认为肿瘤细胞增殖对 Ca^{++} 的需求与正常细胞不同, 这是由于肿瘤细胞中自身胞浆 Ca^{++} 浓度较高, 或 CaM 水平增高。 MacManus 在 1979 年首先报道了在 Morris 肝癌 (Morris Hepatoma) 7288、5123tc (h)、5123tc 和 7795 中发现了一种不同于钙调蛋白的小分子量的钙结合蛋白, 此蛋白由于为癌细胞所特有, 后来被定名为癌调蛋白 (Oncomodulin, OncoM)^[1]。

MacManus 提纯了 OncoM, 建立了放射免疫定量测定法, 并对其氨基酸组成和顺序进行了分析^[2]。此后大量地测定了 OncoM 的分布, 虽然它不仅为肿瘤所特有, 但在人类和大鼠中仅是胚胎的一种正常成份, 因此 OncoM 被认为是一种新的肿瘤标志物。在此基础上 MacManus 等还研究了 OncoM 与磷酸二酯酶 (PDE) 的关系及 OncoM 对 DNA 合成的启动作用, 但至今关于 OncoM 的生物学功能还不完全清楚, 本文仅对 OncoM 的各种特性进行一些论述。

1. 癌调蛋白的物理、化学特性及其与钙调蛋白和细小白蛋白 (Parvalbumin) 的区别

OncoM 是含 108 个氨基酸的钙结合蛋白, 具有热稳定性, 等电点 $pI = 3.9$ 。通过氨基酸计算得到的分子量为 $11700^{[2]}$ 。在氨基酸组成上 OncoM 具有较高比例的酸性氨基酸, 17 个天门冬氨酸和 18 个谷氨酸, 这两种酸性氨基酸的含量几乎占全部氨基酸的三分之一 ($35/108$)。氨基酸序列分析的结果表明, OncoM 不含色氨酸, 苯丙氨酸与酪氨酸的比率很高 ($8/2$)。对 OncoM 与 Ca^{++} 的结合量测定结果表明, 每个分子可以结合 2 个 Ca^{++} , 解离常数 K_d 小于 $1 \mu M$ 。

OncoM 的氨基酸序列分析结果及其特性表明, 它属于肌钙蛋白 C 族类。但 OncoM 与已发现的肌钙蛋白 C 族类中的任何一种都不同。表 1 列出了它与其最相近的两种蛋白的主要区别。用胰蛋白酶肽谱 (tryptic peptide maps) 方法证明它不是 CaM 的降解产物。虽然它与 β -细小白蛋白 (β -parvalbumin) 很相似, 但在细微处还有很多差别 (MacManus 未发表资料)。因此 OncoM 可能是肌钙蛋白 C 族类中的一个新成员。

2. 癌调蛋白的生物学特性

1) 在细胞内分布的特点

用免疫定量测定的方法对 OncoM 在 Morris 肝癌 5123 tc 细胞中分布的测定结果表明,

表1 癌调蛋白、钙调蛋白及细小白蛋白的主要区别

	癌调蛋白	钙调蛋白	细小白蛋白
分子量	11700	16790	12000
等电点	3.9	3.9—4.3*	4.9—5.2*
钙结合数/分子	2	4	2
氨基酸个数	108	148	110—112*
氨基酸组成	含一个半胱氨酸, 酸性氨基酸占1/3, 苏氨酸/丝氨酸=3/6。	不含半胱氨酸, 酸性氨基酸占1/3, 苏氨酸/丝氨酸=12/4	不含半胱氨酸, 酸性氨基酸占1/4, 苏氨酸/丝氨酸=5/8, 赖氨酸含量较高。
分布特性	存在于肿瘤和胚胎外层组织, 仅分布于细胞内的可溶性部分。在正常组织中不存在。	广泛存在于各种动、植物组织中。同时分布于细胞的可溶性部分及颗粒性部分。	存在于脊椎动物肌肉内及高等动物的中枢神经元和内分泌腺细胞中。
生物学作用	可能通过对PDE活性的调节和DNA合成启动的控制, 在肿瘤生长中起重要作用。	具有激活PDE, 调节细胞活性等多种生理作用。	调节哺乳动物的快速关闭骨骼肌纤维的松弛, 及在中枢神经元和内分泌腺细胞中起重要作用。

* 不同来源的分子之间稍有差别。

它只存在于细胞内可溶性部分^[3]。这与CaM不同, CaM既存在于细胞的可溶性部分, 也存在于细胞的颗粒性部分。MacManus在鸟类肉瘤病毒转化的正常大鼠肾细胞的测定中发现, OncoM不仅在胞浆可溶性部分存在, 在细胞核中也存在 (MacManus未发表资料)。虽然我们目前还不知道OncoM的这种分布有什么意义^[3], 但无疑与其功能密切相关。

2) 癌调蛋白为一种癌发育蛋白 (Onco-developmental Protein)

1985年, MacManus^[4]在大鼠胚胎中发现了癌调蛋白的存在。与甲胎蛋白 (AFP) 和癌胚抗原 (CEA) 一样, OncoM是一种癌发育蛋白。Brewer进一步测定了OncoM在Bufflo大鼠胚胎中的合成, 结果表明OncoM并不在胎儿的器官组织中合成, 而是在胚胎外组织 (Extraembryonic tissue)^[5]中合成, 并发现在胎盘外层的合成量比内层更高。在怀孕16—17天时, 癌调蛋白的合成量有一个大幅度的增加, 以后在整个妊娠期处于较高的水平。

3) 癌调蛋白存在的细胞特异性

MacManus在几种Morris肝癌中发现了OncoM之后, 又用放射免疫法 (RIA) 测定了其它的肿瘤细胞, 结果证实OncoM不仅存在于Morris肝癌中, 也存在于其它多种肿瘤细胞中,

如小鼠3T3 clone 6和clone 7等。同时也发现并非各种肿瘤细胞都含有OncoM, 如在用甲基胆蒽转化的3T3和3T12以及小鼠骨髓瘤细胞中就没有检测出OncoM。在用2-乙酰氨基蒽 (AAF)、二甲基苯蒽 (DMBA) 等致癌剂处理过的肝组织中也未 (或极少) 检测出OncoM。1983年, Durkin^[6]在用病毒 (Avian Sarcoma Virus, ASV) 转化的细胞 (Normal Rat Kidney) 中检测到了OncoM。MacManus等^[1]于1982年在培养人肺癌细胞系WI38-VA13, 子宫颈癌C33, 和黑色素瘤melanoma-6278中发现了OncoM, 然而, 在正常人肺WI38细胞中没有找到。1984年, MacManus等^[7]又在人的大细胞肺癌、膀胱癌 (肺转移) 和肺癌 (肝转移) 的手术组织中检测到了OncoM。目前已知OncoM存在于人类的多种肿瘤组织中, 其中包括: 膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、结肠癌、喉癌、肝癌、肺癌、皮肤癌和舌癌等。尽管OncoM仅存在于85%所检测的肿瘤中, 但没有在任何一种正常的非胚胎组织中发现, 因此认为它可以作为一种肿瘤标志物。

4) 癌调蛋白在肿瘤细胞中的功能

① OncoM与CaM依赖的磷酸二酯酶 (PDE) 的关系

CaM能激活很多不同形式的酶^[8], 其中包

括 CaM 依赖的 PDE。肌钙蛋白 C 族中的肌钙蛋白 C 和细小白蛋白都能代替 CaM 来激活 CaM 依赖的酶。因此 MacManus 在 1981 年研究了 OncoM 与 CaM 依赖的 PDE 的关系, 结果表明 OncoM 可以激活牛心 cGMP-PDE。但 Klee 等^[9]测定了 OncoM 对牛脑的 CaM 依赖的 cAMP-PDE 的影响证明, OncoM 并不能激活牛脑中 CaM 依赖的 PDE。Mutus 等^[10]认为, OncoM 对不同来源的 PDE 的激活作用不一样, 它能较明显地激活牛心的 PDE, 但对牛脑 PDE 的激活就很不明显。既然 OncoM 对不同来源的 PDE 有不同的作用, 当细胞癌变后其 PDE 的同功酶就有变化, 那么肿瘤细胞中 cAMP 的降低和 cGMP 的升高是否与 OncoM 对肿瘤细胞中 PDE 的同功酶选择作用有关呢? 这是一个值得深入研究的问题。

② OncoM 对 DNA 合成的启动作用

对大鼠肝正常细胞 T51B 的研究表明, 在被低 Ca^{++} ($20 \mu\text{M}$) 阻止增殖的细胞培养液中加入纯化的 OncoM 可以启动细胞的 DNA 合成^[11]。这种作用需要 OncoM 与 Ca^{++} 的结合。肌钙蛋白 C 族里的其它蛋白如细小白蛋白没有此作用, 这说明对 DNA 合成的启动作用并不是肌钙蛋白 C 族的普遍规律, 而是 OncoM 所特有的。在肿瘤细胞中 CaM 的水平也比相应的正常组织高。尽管有人报道 CaM 的活性并不依赖于它在细胞中的含量而仅与 Ca^{++} 浓度有关, 但一般认为肿瘤细胞能在低 Ca^{++} 条件下增殖, 是由于 OncoM 和增高的 CaM 协同作用的结果。目前还没有实验证据说明 OncoM 和 CaM 到底哪个起主导作用。Tomlinson^[12]认为, OncoM 的激活所需要的 Ca^{++} 浓度低于 CaM 激活所需要的 Ca^{++} 浓度。因此可以认为在低 Ca^{++} 浓度下, OncoM 可能对 DNA 合成的激活起主导作用。但 Brewer^[13]用 Morris 肝癌所做的实验表明, 肿瘤细胞在低 Ca^{++} 条件下的增殖, 似乎与 OncoM 的关系不大。关于 OncoM 在 DNA 合成启动及肿瘤生长、增殖中的作用是一个很复杂的问题, 目前尚不明确, 有待于进一步地研究。

总之, OncoM 被发现不久, 目前对它的研究还很全面。例如, 目前对 OncoM 与 PDE 激活和 DNA 合成启动的关系只有初步的资料。关于 OncoM 在肿瘤生长中的确切作用, 尚不清楚, 但由于 Ca^{++} 对细胞的分裂和分化有重要的调节作用, 因此不难预见在以无控制分裂为特征的肿瘤细胞中, Ca^{++} 结合蛋白的变化, 必对肿瘤细胞的增殖有影响。而对此过程的深入研究也必有很大的理论意义。

另外, 对于 OncoM 与癌基因的关系也有待阐明。有人在小鼠妊娠期的胎盘中检测出一种 c-onc 的转录产物^[14], 这种癌基因的转录位点与 OncoM 在胎盘中合成的位点一样, 同样是胎盘外层多于内层。但这两者之间有没有关系, 是不是 OncoM 就是 c-onc 转录产物进一步翻译的蛋白产物, 目前还不清楚。

从应用的角度来说, OncoM 是一种潜在的肿瘤标志, 具有很高的肿瘤特异性, 且有个别报道表明 OncoM 在肿瘤病人的血液中增高, 因此 OncoM 很可能成为肿瘤诊断的一种指标。

参 考 文 献

- [1] MacManus, J. P. et al.: *Oncodevelop. Biol. Med.*, 3: 79, 1982.
- [2] ———— *Eur. J. Biochem.*, 136: 9, 1983.
- [3] ———— *Cancer Res.*, 41: 974, 1981.
- [4] ———— *Cancer Lett.*, 27: 145, 1983.
- [5] Brewer, L. M. and MacManus, J. P.: *Develop. Biol.*, 112: 000, 1985.
- [6] Durkin, J. P. et al.: *Cancer Res.*, 43: 5390, 1983.
- [7] MacManus, J. P. et al.: *Cancer Lett.*, 21: 309, 1984.
- [8] Means, A. R. and Dedman J. R.: *Nature*, 285: 73, 1980.
- [9] Klee, C. B. and Heppel, L. A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 125: 420, 1984.
- [10] Mutus, B.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 131: 500, 1985.
- [11] Boynton, A. L. et al.: *Exp. Cell Res.*, 138: 454, 1982.
- [12] Tomlinson, S. et al.: *Clinical Sci.*, 66: 497, 1984.
- [13] Brewer, L. M. et al.: *J. Nutr. Growth Cancer*, 2: 25, 1985.
- [14] Muller, T. et al.: *Mol. Cell Biol.*, 3: 1062, 1983.

[本文于 1986 年 4 月 14 日收到]