

- 2 Jaenicke R. Protein folding: local structures, domains, subunits, and assemblies. *Biochemistry*, 1991;**30**:3147
- 3 Ptitsyn O B. How does protein synthesis give rise to the 3D-structure? *FEBS*, 1991;**285**:176
- 4 Elove G A, Chaffotte A F, Roder H *et al.*, Early step in cytochrome c folding probed by time-resolved CD and fluorescence spectroscopy. *Biochemistry*, 1992;**31**:6876
- 5 Matouschek A, Kellis J T, Serrano L *et al.* Transient folding intermediates characterized by protein engineering. *Nature*, 1990;**346**:440
- 6 Baldwin R L. Pieces of the folding puzzle. *Nature*, 1990;**346**:409
- 7 Creighton T E. Protein folding. *Biochem J*, 1990;**270**:1

内皮素与肿瘤*

于 昕 周爱儒

(北京医科大学生物化学教研室, 北京 100083)

提 要

内皮素是一类具有广泛生物学作用的活性多肽。强烈缩血管和升血压作用是其主要的生理功能。内皮素还具有促进细胞增殖等生长因子样作用。近年来发现, 内皮素与肿瘤的发生发展有关。某些肿瘤细胞和肿瘤组织有内皮素基因的高表达, 并能通过旁分泌和自分泌方式促进肿瘤的生长。

关键词 内皮素, 肿瘤, 活性多肽, 细胞生长因子

内皮素 (endothelin, ET) 是一类具有强烈缩血管和升血压作用的活性多肽, 也是一类强大的平滑肌细胞的分裂剂和细胞生长因子。ET 首先由日本学者 Yanagisawa 等从猪的主动脉内皮细胞中分离得到^[1]。人体内也存在 ET。近年来的研究表明, ET 不仅存在于内皮细胞中, 而且广泛分布在神经、血管平滑肌及巨噬细胞中。许多器官组织都有特异的 ET 受体, 如心、肺、脑、血管平滑肌、血管内皮、胃肠组织等。因此, ET 具有重要的生理和病理意义, 不仅参与调节心血管的功能, 还可以作为一种潜在的神经介质和细胞生长因子参与血压和中枢神经系统的调节。ET 在心肌梗塞、高血压、肾功能衰竭、休克、脑血管意外等疾病的发病中具有重要作用^[2]。最近的研究表明, ET 与肿瘤的发展也有密切关系。

1 ET 的分子生物学概述

肽^[3], 即 ET-1 ET-2 和 ET-3, 它们分别来自三个不同的基因, 且分别定位于人的不同染色体上。三者在结构上具有同源性, 但生物活性不同, 以 ET-1 最强, 而 ET-3 最弱。有关 ET 基因表达的调控目前亦有报道。例如, ET-1 基因在细胞核内转录剪切形成前内皮素原-1 mRNA, 在细胞质中翻译出前内皮素原-1。该前体蛋白经特异蛋白酶作用, 形成由 38 个氨基酸残基组成的大 ET-1 (big ET-1), 后者再经另一酶作用, 生成由 21 个氨基酸残基组成的活性 ET-1。血浆中同时存在有大 ET-1 和 ET-1, 但前者活性仅为后者的 1/100—1/1000。因此, 大 ET-1 只有转变为 ET-1 才能发挥生理效应。生理情况下, 血中 ET 水平很低 (pg/ml), 主要通过旁分泌和/或自分泌方式起调节血管张力和器官血流量的作用^[4]。

*属国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1992-04-17 修回日期: 1992-06-15

许多因素都可影响 ET 基因的表达,如血管紧张素 II,白介素 1,肿瘤坏死因子 α ,转化生长因子 β ,血小板源生长因子,表皮生长因子,佛波酯等可增加 ET 的表达,而白介素 2, γ 干扰素等可使 ET 表达减少。此外,细胞间的相互作用也会影响 ET 表达^[2]。但这些因素影响 ET 基因表达的机制尚不十分清楚。

2 ET 促细胞增殖的生物学效应

ET 不但具有缩血管作用,同时又是一种较强的促细胞增殖因子。将 ET 加入血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 的培养液中使其终浓度低于 1 ng/ml , 17h 后可刺激 VSMC 合成 DNA。血小板源生长因子可加强 ET 的作用^[5]。ET 的促增殖作用并不局限于 VSMC, 它还可促进 Swiss 3T3 细胞合成 DNA^[6] 及促进大鼠肾小球系膜细胞从 G_0 期进入 G_1 期,从而促进该细胞分裂增殖^[7]。越来越多的研究结果表明 ET 具有细胞生长因子样效应。但 ET 促细胞增殖的机制还不十分明确。目前发现 ET 可促进钙离子内流,使细胞内钙离子浓度增加^[7,8]。细胞表面存在两种 ET 受体,其中一种与 ET 结合后,可激活磷脂酶 C,产生 1, 4, 5-三磷酸肌醇和甘油二酯,两者都参与细胞内的信息传递。1, 4, 5-三磷酸肌醇导致钙离子从细胞内贮释放,甘油二酯可激活蛋白激酶 C (PKC),从而促进细胞增殖。ET 还可促进细胞核内原癌基因 c-fos 和 c-myc 的表达^[8],与其它生长因子和磷脂酶 C 激动剂的作用相似,而这两种原癌基因与细胞增殖的调节密切相关。此外,ET 还可影响 Na^+/H^+ 交换,改变细胞内 pH 值,而这正是 G_0/G_1 转换,进行细胞有丝分裂的必要反应^[7]。由此可见,ET 具有生长因子样的生物学效应。

3 ET 与肿瘤

众所周知,肿瘤的生长依赖于血管的生成。当体内实体瘤超过 2—3mm,细胞数达到 10^7 左右时,继续生长必须有血管供应的保证。新毛细血管网的建立首先要有内皮细胞的增殖和

移动,而小动脉和小静脉的进一步形成是在毛细血管网基础上适应性变化的结果。有证据表明,ET 可能参与血管形成过程^[9]。人们还发现,某些肿瘤细胞表面存在 ET 受体,ET 可以通过其受体调控肿瘤细胞的生长繁殖。由此推测,ET 与肿瘤的发生发展可能存在联系。最近,人们从基础和临床两方面对 ET 与肿瘤的关系进行了初步探讨。

例如,人的宫颈癌细胞 (HeLa) 和喉癌细胞 (HEp-2) 可以表达 ET-1,同时这两种细胞表面存在有 ET-1 受体。肿瘤细胞分泌的 ET-1,可能通过旁分泌或自分泌方式起促增殖作用^[9]。另外一些肿瘤细胞也可以表达 ET-1,但在它们表面没有 ET-1 受体。例如, Kusuvara 等用放射免疫方法对 42 株人癌细胞培养上清进行检测^[10],发现其中 13 株有 ET-1 的表达,表达水平从 4.2 p mol/L 到 150 p mol/L (该方法灵敏度为 4.0 p mol/L),并且证明肿瘤细胞表达的 ET 的确是人 ET-1 基因的产物。他们的研究结果还表明,不同肿瘤的细胞株,ET-1 表达水平有显著差异。在 14 株来源于乳腺癌、胰腺癌、结肠癌的细胞株中,有 11 株检测到 ET-1; 18 株来源于胃癌、肺癌、肝癌、黑素瘤的细胞株中只有 2 株检测到 ET-1;而来源于血液恶性肿瘤的 10 株细胞株中均未检测到 ET-1。1989 年,该实验室曾报道 ET 水平在 100 p mol/L 以上,可刺激 Swiss 3T3 成纤维细胞 DNA 的合成^[10]。这样看来,某些肿瘤细胞中 ET 基因产物的水平足以在瘤细胞周围形成微环境,起到促细胞生长的作用。尽管到目前为止,还未发现这 42 株癌细胞表面存在 ET-1 受体,但是在皮肤成纤维细胞、VSMC 及 Swiss 3T3 细胞表面存在大量 ET-1 受体。由此推测,ET-1 可能通过旁分泌作用刺激基质细胞的生长,从而间接起到维持和促进癌细胞生长的作用。此外,生长因子也可影响癌细胞 ET-1 基因的表达水平。如:人子宫内膜癌细胞 HEC-1A 可表达前内皮素原-1 mRNA (prepro ET-1 mRNA) 及前内皮素原-1 (prepro ET-1),而转化生长因子 β 可增加 prepro ET-1 mRNA

及 prepro ET-1 的表达水平^[9]. 除了人 ET-1 基因产物, 癌瘤细胞也可特异地表达人 ET-2 基因产物^[11].

在肿瘤组织中同样检测到 ET 基因表达产物. Giaid 等用免疫细胞化学方法对 66 例肺部肿瘤的组织石蜡切片进行分析^[12], 其中 28 例为 ET 阳性, 且以鳞癌和腺癌为主. 原位杂交方法表明, 肺癌的不同病理分型中, 只在鳞癌 (4/7) 和腺癌 (5/8) 中有 ET mRNA 表达, 表明这两类癌组织本身可转录翻译出 ET 产物. 其它类型肺癌, 如大细胞肺癌、小细胞肺癌、类癌等则不表达 ET. 不同类型癌组织 ET 表达的不同与癌细胞增殖的关系有待更进一步的研究.

临床上对肿瘤病人体内 ET 水平进行观察, 发现肿瘤病人手术前后, 体内 ET 水平有明显的改变. 如血管内皮瘤的患者, 手术前血压偏高, 血浆 ET-1 浓度远高于正常对照组; 手术后血压恢复正常, 血浆 ET-1 水平也下降. RNA 印迹杂交表明, 肿瘤组织中有 ET-1 mRNA 的高表达^[13]. Itoh 等的报道也说明肿瘤病人手术前后, 血浆中 ET 水平会发生变化^[14].

另外, ET 还可增加肿瘤组织的血流量, 尽管其效果不如血管紧张素 II 明显^[15].

总之, ET 作为一类近年来新发现的活性多肽, 对它与肿瘤关系的研究正逐渐引起人们的关注. 基础与临床两方面的研究结果初步显示, ET 与肿瘤之间确实存在着密切的关系. 肿瘤组织和肿瘤细胞中高表达的 ET, 很可能通过旁分泌或自分泌方式作用于肿瘤细胞或基质细胞, 从而直接或间接地维持和促进肿瘤细胞的生长. ET 还具有促血管形成和增加肿瘤组织血流量的作用, 而限制血管生长则可以达到控制肿瘤发展的目的. 可见, 探讨 ET 在肿瘤发展中的作用及其分子生物学机制具有理论和实际意义.

参 考 文 献

1 Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S *et al.* A novel po-

tent vaso constrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988; **332**:411

2 汤健, 唐朝枢. 心肺内分泌学. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1991:61

3 Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S *et al.* The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isoforms predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989; **86**:2863

4 Kimura S, Kusuya Y, Sawamura T *et al.* Conversion of big endothelin-1 to 21-residue endothelin-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity relationships of big endothelin-1. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1989; **13**:s5

5 Nakaki T, Nakayama M, Yamamoto S *et al.* Endothelin-mediated stimulation of DNA synthesis in vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res Commun*, 1989; **158**:880

6 Takuwa N, Takuwa Y, Yanagisawa M *et al.* A novel vasoactive peptide endothelin stimulates mitogenesis through inositol lipid turnover in Swiss 3T3 fibroblasts. *J Biol Chem*, 1989; **264**:7856

7 Simonson M S, Wann S, Paolo Mené *et al.* Endothelin stimulates phospholipase C Na^+/H^+ exchange, c-fos expression and mitogenesis in rat mesangial cells. *J clin invest*, 1989; **83**:708

8 Komuro I, Kurihara H, Sugiyama T *et al.* Endothelin stimulates c-fos and c-myc expression and proliferation of vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett*, 1988; **238**:249

9 Economos K, Macdonald P C, Cascy M L *et al.* Endothelin-1 gene expression and biosynthesis in human endometrial HEC-1A cancer cells. *Cancer Res*, 1992; **52**:554

10 Kusuha M, Yamaguchi K, Nagasaki K *et al.* Production of endothelin in human cancer cell lines. *Cancer Res*, 1990; **50**:3257

11 Ohkubo S, Ogi K, Hosoya M *et al.* Specific expression of human endothelin-2 (ET-2) gene in a renal adenocarcinoma cell line. Molecular cloning of cDNA encoding the precursor of ET-2 and its characterization. *FEBS Lett*, 1990; **274**(1,2):136

12 Giaid A, Hamid Q A, Springall D R *et al.* Detection of endothelin immunoreactivity and mRNA in pulmonary tumors. *J Pathol*, 1990; **162**:15

13 Yokokawa K, Tahara H, Kohno M *et al.* Hypertension associated with endothelin-secreting malignant hemangioendothelioma. *Annals Intern Med*, 1991; **114**:213

14 Itoh K, Goseki N, Yoshino K *et al.* Changes in endothelin in human plasma after surgery: preliminary report. *Nippon-Gesa-Gakkai-Zasshi*, 1990; **91**:296

15 Tanda S, Hori K, Saito S *et al.* Comparison of the effects of intravenouslybolus-administered endothelin-1 and infused angiotensin II on the subcutaneous tumor blood flow in anesthetized rats. *Jpn J Cancer Res*, 1991; **82**(8):958