

钙信号重构调控肿瘤发生发展

孙翠巍 王显花 程和平*

(北京大学分子医学研究所, 北京 100871)

摘要 钙离子是细胞内最重要的第二信使之一, 对肿瘤细胞的发生发展起着重要的调控作用. 无节制的增殖、降低的凋亡和高度的转移能力是肿瘤细胞的三大特征. 细胞过度增殖需要胞浆钙升高, 而逃避凋亡则需要较低的胞浆钙. 在肿瘤发生发展过程中, 早期过表达的胞膜钙通道倾向于调低, 而内质网钙通道表达升高, 并伴有通道定位的改变和新通道的形成. 迁移细胞中的微区钙信号可决定细胞转移的方向. 综上所述, 钙信号可作为药物靶点, 在肿瘤药物研发中具有一定的潜力.

关键词 钙信号, 肿瘤, 增殖, 凋亡, 迁移

学科分类号 R73

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2014.00252

钙离子是细胞内最重要的第二信使之一, 调控着不同的细胞功能, 例如受精、增殖、发育、凋亡、学习、记忆以及收缩和分泌等. 在肿瘤细胞中, 钙信号对其标志性特点的每一方面都起着重要的调控作用, 如无节制的增殖能力、降低的凋亡能力和高度的转移能力等.

静息状态下, 胞浆内的游离钙浓度稳定在 100 nmol/L 左右, 称之为钙稳态. 在细胞受到刺激时, 胞浆钙浓度可升高 10 倍以上, 局部可达 100~1000 倍, 其主要来源于胞外和被称为钙库的内质网/肌浆网. 胞外钙浓度为 1~2 mmol/L, 通过细胞膜上分布的各种钙通道进入胞浆, 如电压调控的钙通道 (voltage operated calcium channel, VOCC)、受体偶联的钙通道、第二信使调控的钙通道、钙库调控的钙通道 (store operated calcium channel, SOC)、瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 通道等. 内质网/肌浆网钙浓度为 100~500 μ mol/L, 主要通过 1, 4, 5-三磷酸肌醇受体 (inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor, IP₃R) 或雷诺丁受体 (ryanodine receptor, RyR) 进入胞浆. 胞浆钙恢复至静息水平主要通过胞膜上的 Ca²⁺-ATP 酶 (plasma membrane Ca²⁺ ATPase, PMCA) 和内质网/肌浆网上的 Ca²⁺-ATP 酶 (sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase, SERCA). 钠钙交换体起着双向转运的作

用, 其方向取决于由钠、钙跨膜梯度所共同决定的“翻转电位”与膜电位之间的差值. 此外, 胞浆内分布着多种亲和力不同的钙缓冲蛋白. 据估计, Ca²⁺ 在与它们结合之前, 仅移动 0.1~0.5 μ m, 持续时间为 50 μ s^[1].

钙信号既有遍及全细胞的整体钙信号, 也有局限于特定区域的微区钙信号, 表现出独特的时间、空间和强度特征. 无论哪一方面发生异常, 都有可能导致病变. 以心肌钙信号为例, 其基本钙信号是钙火花, 由一小簇 RyR (钙释放单元) 的开放所引起, 整个过程需要 40 ms, 空间范围是 2 μ m^[2]. 在钙超载情况下, 通过钙致钙释放的机制钙火花触发邻近的钙释放单元, 形成在时间空间上扩布的钙波. 钙波传播到整个细胞, 并可经由细胞间的缝隙连接传递到其他细胞^[3]. 对肿瘤细胞来说, 它们经常表现为细胞膜上钙通道表达增加, 进入细胞内的钙增多, 使原本发生于局部的微区钙信号扩散成为全细胞的整体钙信号, 形成钙振荡, 引起过度增殖等.

无节制的增殖能力、降低的凋亡能力和高度的

* 通讯联系人.

Tel: 010-62765957, E-mail: chenghp@pku.edu.cn

收稿日期: 2014-09-03, 接受日期: 2014-09-10

转移能力是肿瘤细胞的突出特征. 本文将着重综述钙信号重构在上述三方面的作用, 并进一步阐述其在肿瘤药物研发中的潜力.

1 钙信号重构与肿瘤细胞增殖

钙离子在整个哺乳动物细胞周期中都发挥着重要作用, 尤其是 G1 期的早期、G1/S 和 G2/M 期^[4]. 当细胞外钙从 1 mmol/L 降到 0.1 mmol/L 时, 细胞增殖停止^[5]. 细胞外钙对极早期基因 *FOS*、*JUN* 和 *MYC* 的表达和 RB1 的磷酸化非常重要, 钙调蛋白是细胞通过 G1 期和有丝分裂期所必需, 钙调磷酸酶在细胞通过 G1 期和 S 期的过程中发挥重要作用^[6]. 抑制钙调磷酸酶可减弱细胞周期素依赖性激酶 2(cyclin-dependent protein kinase 2, CDK2) 的活性, 同时钙调磷酸酶也调控 cAMP 反应元件结合蛋白 1(cAMP response element binding protein 1, CREB1) 和活化 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T-cells, NFAT)等控制 G1/S 期转换的转录因子^[6]. 此外, Ca^{2+} 和钙调素依赖性激酶 II (calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II) 控制着中心体的复制和分离, 使复制的染色体能平均分配到 2 个子细胞中去^[6]. 在增殖细胞中, 钙信号经常以振荡的形式出现^[7].

TRPV6 是 TRP 家族中高钙选择性通道, 具有组成性活性. TRPV6 在正常前列腺组织和良性肿瘤中 mRNA 表达水平很低或检测不到^[8-9], 在前列腺癌的表达水平随恶性程度的增高和转移程度的加深而升高^[9]. 在 LNCaP 前列腺癌细胞中敲低 TRPV6 可抑制增殖, 阻止细胞进入 S 期, 降低增殖细胞核抗原(PCNA)的表达^[10]. 这与它能够促进钙内流, 激活 NFAT 有关^[10]. 人乳腺癌、结肠癌、甲状腺癌和卵巢癌组织中 TRPV6 表达量均显著升高^[11].

在前列腺上皮细胞中, TRPC6 也高表达, 它增强 α 肾上腺素能受体介导的增殖, 也与 NFAT 活化有关^[12]. 但是与 TRPV6 属于 SOC 不同, TRPC6 通过直接激活二酰甘油, 非 SOC 依赖性途径引起钙内流^[12]. 它们促进增殖的机理不同, TRPV6 通过促进肿瘤细胞的基础增殖水平, 而 TRPC6 则增强儿茶酚胺的直接促增殖作用^[13].

钙库调控的钙内流(store operated calcium entry, SOCE)是当内质网钙库清空时激活的胞外钙离子内流, 是非兴奋细胞最重要的钙内流途径. 随着 SOCE 的主要组分基质相互作用因子 1(stromal

interaction molecule 1, STIM1)和 Orai1 在 2005 和 2006 年分别被确定^[14-18], 它在肿瘤发生发展中的作用也成为研究热点. STIM1 是内质网钙感受器, 钙库排空时, 成簇聚于胞膜附近的内质网膜上, 招募并激活 Orai1 形成钙内流通道. STIM1 和 Orai1 在乳腺癌^[19]、非小细胞肺癌^[20]和恶性黑色素瘤^[21]等多种肿瘤组织中高表达, 并和预后相关. STIM1 过表达可显著促进子宫颈癌异种移植小鼠的肿瘤生长, 反之, 敲低 STIM1 则极大地抑制肿瘤生长^[22]. 恶性食道鳞状细胞癌病人 Orai1 高表达, 人食道鳞状细胞癌细胞 SOCE 活性较高, 并表现出活跃的钙振荡. SKF96365 抑制 SOCE 可完全阻断癌细胞钙振荡, 敲低 Orai1 显著抑制钙振荡、细胞增殖和异种移植小鼠肿瘤生长^[23].

新近发现的 SPCA2-Orai1 是钙库非依赖的钙内流通道^[24]. SPCA(secretory pathway Ca^{2+} -ATPases), 分泌途径衍生钙离子转运 ATP 酶, 将 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 转运到高尔基体以便蛋白加工. 在哺乳动物中该功能主要由 SPCA1 来完成, SPCA2 主要表达于乳腺上皮细胞, 在泌乳时上调达 35 倍^[24]. 许多乳腺癌细胞株 SPCA2 高表达, 抑制表达可降低胞浆钙的基础水平, 抑制细胞增殖和体内肿瘤发生^[24]. 反之, 高表达 SPCA2 可显著升高胞浆钙并使细胞发生转化^[24]. 在这一系列实验中, SPCA2 定位于细胞膜上, 而不是高尔基体上, 并且 SPCA2 的作用与其传统的钙泵功能无关, 而是通过 C 端来激活 Orai1 的钙内流活性^[24]. 在人乳腺癌细胞株 MCF-7 中, STIM1-Orai1 介导的 SOCE 在肿瘤增殖中所起作用较小, 在肿瘤侵袭和转移过程中必不可少, 而在后者 SPCA2 的作用微乎其微^[25].

VOCC 是兴奋性细胞主要的钙内流通道, 它们也可在肿瘤细胞中表达, 尤其是 T 型钙通道. T 型钙通道激活电位低, 失活速度快, 在 S 期和 G2/M 期表达较高, G0/G1 期表达较低, 与肿瘤细胞周期中的钙振荡一致^[7]. T 型钙通道的促增殖作用在很多肿瘤中有报道, 如乳腺癌^[26]、前列腺癌^[27]、结肠癌^[28]、胃癌^[28]、喉鳞状细胞癌^[29]以及白血病细胞^[28]. 但是, 也有人报道 T 型钙通道的不同亚型在细胞增殖中发挥的作用不同, Cav3.1 的主要作用是抑制增殖, 促进凋亡, 而 Cav3.2 的作用是促进增殖^[30]. L 型钙通道由于激活电压较高, 很少有在肿瘤细胞中表达的报道. 但是, 近期利用 ONCOMINE 数据库在前列腺癌中做的研究显示, 15 个发表的 cDNA 微阵列数据中, 14 个显示 CACNA1D 高表

达, 其中有 9 个表达量升高 2~17 倍. 并且, CACNA1D 在有 TMPRSS2-ERG 基因融合(与凋亡抵抗有关)的前列腺癌中显著增高. 抑制 L 型通道的功能或敲低 CACNA1D 可抑制细胞增殖^[31]. 另有报道 L 型钙通道的 $\alpha 2\delta 1$ 在肝癌肿瘤干细胞 Hep-12 中高表达, 而在同一来源的肝癌细胞 Hep-11 却不表达^[32]. 用抗体中和 $\alpha 2\delta 1$, Hep-12 细胞发生凋亡, 成球能力减弱, 并抑制小鼠移植肿瘤发生^[32]. 这是目前唯一将肿瘤干细胞与具体钙通道联系起来, 并证明具有临床治疗潜力的报道.

钙内流增多可使胞浆钙增高, 促进肿瘤细胞增殖. 相反, 钙外排减少也可起同样作用, 表现为 PMCA 和 SERCA 的低表达. 在小鼠中去除 SERCA2 的一条链, 可导致口腔鳞状细胞癌的自发发生^[33]. 在 SV40 转化的皮肤和肺的纤维母细胞中, PMCA1 的 mRNA 和蛋白质水平均降低, PMCA4 的 mRNA 水平降低^[34], 结肠癌病人样品 PMCA4 蛋白表达降低^[35]. 乳腺癌中 PMCA 表达与前述不太一致. 在多种乳腺癌细胞株 PMCA1 mRNA 水平均有中等程度的上升, 在 ZR-75-1 中 PMCA2 mRNA 显著升高, 但是 PMCA4 mRNA 仍显示降低趋势^[36-37]. 这种不一致可能与不同的细胞类型、SERCA 亚型以及肿瘤发展阶段有关.

2 钙信号重构与肿瘤细胞凋亡

细胞凋亡总是伴有胞浆钙升高, 可分为胞浆介导的、线粒体介导的和内质网介导的三种途径^[38], 这三者相互联系. 胞浆钙过载, 可激活钙调磷酸酶, 进而磷酸化 Bad^[39]和 NFAT 家族, 上调促凋亡分子 FasL 的表达^[40]. 并且, 它可引起线粒体钙摄取过多, 导致线粒体通透性改变, 释放细胞色素 c 等促凋亡因子. 胞浆钙过载还可致内质网钙稳态紊乱, 激活内质网中的 caspase-12, 引起细胞凋亡^[41].

为了有效逃避凋亡, 肿瘤细胞需要降低甚至阻止细胞外钙的进入. 钙内流通道表达和活化水平降低是肿瘤细胞逃避凋亡的机制之一. 大鼠胰腺瘤 RIN-5F 细胞和 U937 单核细胞中 TRPM2 的敲低, 可明显降低由 H_2O_2 和 TNF- α 引起的钙内流和细胞死亡; 而过表达 TRPM2 可增强 H_2O_2 引起的钙内流和细胞凋亡^[42]. 除了 TRP 通道家族, 离子通道型嘌呤受体 P2X₇ 在子宫颈癌细胞的凋亡逃逸中也发挥着重要作用^[43]. 激素非依赖性的前列腺癌细胞, 表现为凋亡抵抗, 特征是 SOCE 显著降低^[44]. 另一方面, 增强胞浆钙外排也可有效逃避凋亡. 在

乳腺癌细胞 T47D 中过表达 PMCA2, 可降低胞浆钙, 产生凋亡抑制^[45]. 在人乳腺癌组织中, PMCA2 高表达往往预示较高的肿瘤分级和较差的预后^[45].

钙从内质网移动到线粒体是多种凋亡通路的关键步骤. 内质网与线粒体之间存在加快钙转运的微区. 高分辨率的 3D 电子断层摄影显示, 多达 20% 的线粒体表面与内质网有直接接触, 它们之间的钙转运可通过直接运输, 而不是囊泡运输. 生化研究也表明存在线粒体与内质网相连的区域 (mitochondria-associated membranes, MAMs)^[46], 该区域包含重要的钙结合蛋白和钙感受器. 而且, 该区域与线粒体相对应的内质网含有丰富的 IP₃R, 是内质网与线粒体进行钙传输的“热点”^[47]; IP₃R/RyR 与线粒体上的电压依赖的阳离子通道也存在物理联系^[48]. 这些形成了紧密调控的从内质网到线粒体的钙转运.

有报道抑凋亡蛋白 Bcl-2 与 IP₃R1 存在物理上的相互作用^[49]. Bcl-2 家族成员通过调控 IP₃R 的磷酸化, 进而控制内质网钙的泄漏及可能由之产生的凋亡^[49]. 磷酸化 IP₃R, 会强烈抑制钙从内质网释放, 减弱线粒体钙升高, 保护细胞免于凋亡. AKT/PKB 可磷酸化 IP₃R, 其细胞保护功能的机制可能源于此^[50]. SERCA 在 HeLa 细胞中过表达可增加细胞对凋亡的敏感度^[51]. TRPM8 定位于细胞膜上, 但是在某些前列腺癌细胞也可在内质网膜上检测到^[52]. 内质网膜上的 TRPM8 可导致内质网钙降低, 引起细胞对凋亡的抵抗. 发生凋亡抵抗的细胞大多预后较差.

3 肿瘤细胞增殖和凋亡转化过程中的钙信号重构

肿瘤细胞增殖需要较高的胞浆钙, 而过高的钙则会导致凋亡. 肿瘤细胞是如何利用相互矛盾的钙信号来达到自身扩张的目的? 随着肿瘤细胞恶性程度的加深, 其表型亦相应改变, 钙信号又是如何重构的呢?

TRPM8 是在肿瘤细胞中除 TRPV6 之外研究得最早的钙通道之一. TRPM8 在正常前列腺细胞中有中等表达, 在前列腺癌中高表达^[53], 但在恶性程度较高的基底型癌中表达下降^[54]. 在前列腺癌的异种移植和用抗雄性激素治疗的临床样本中, 检测不到 TRPM8 的表达^[55]. 除此之外, Orai1、TRPV1 和 TRPC1 在前列腺癌向非激素依赖性转化

的过程中表达均下调^[56], Bcl-2 蛋白表达在此过程则逐渐升高^[57]. TRPV6 在前列腺癌中的表达水平随恶性程度的增高而升高^[9], 而 140 例临床样本显示 TRPV6 mRNA 和蛋白质表达水平在复发性和激素非依赖的肿瘤中均显著降低^[9]. 在肿瘤恶性程度较高的阶段, 钙内流通道表达呈下降趋势, 表现出由增殖增高向凋亡抵抗转变.

在 SV40 转化的皮肤和肺成纤维母细胞中, PMCA 表达下降^[34]. 在乳腺癌细胞株中, PMCA2 的表达上调^[37]. 上文提过的恶性程度较高的乳腺癌细胞株 T47D 中 PMCA2 过表达, 并可降低由 Ca^{2+} 转运子诱导的凋亡, 临床样本的数据与此一致^[45]. 肿瘤恶性程度增高, 钙外排增多, 凋亡能力降低.

激素非依赖的前列腺癌和乳腺癌的突出表现为凋亡抵抗, 经常也表现为增殖能力降低. 肿瘤高增

殖能力的获得主要来自于自身产生和分泌的促有丝分裂信号, 伴随而来的生长抑制信号帮助肿瘤保持稳态, 例如 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{TGF-}\beta$ ^[13]. 细胞增殖需要胞浆钙升高, 而生长抑制则相反. 在两者相互作用的过程中, 可能细胞由胞膜钙内流为主向内质网钙释放转变. 久之, 胞膜钙通道表达降低或转位到内质网上, 同时内质网的 $\text{IP}_3\text{R/RyR}$ 表达增加, SERCA 降低, 细胞表型变为凋亡抵抗. 肿瘤中 T 型钙通道的表达, 使细胞在凋亡抵抗的低钙状态下仍可顺利进入 S 期和 M 期^[58](图 1). 近期也有研究表明, 随着肿瘤的进展, 钙内流通道从由 Orai1 主导的 SOC, 转变为由花生四烯酸激活、Orai3 参与的 Orai1/Orai3 通道, 从以促增殖为主转变为突出的抗凋亡性质^[59].

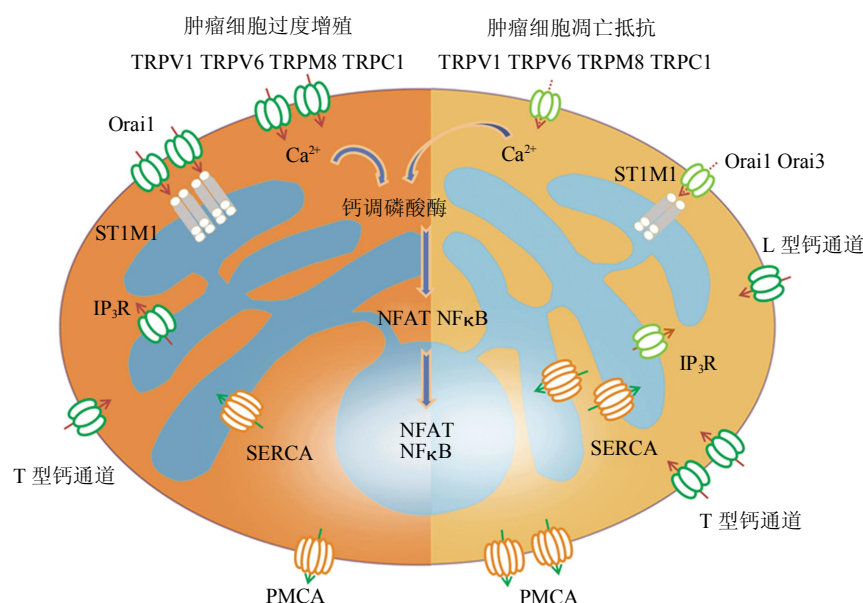


Fig. 1 Calcium remodeling in cancer cells

图 1 肿瘤细胞中的钙信号重构

左侧: 过度增殖的肿瘤细胞, 胞浆钙升高, 胞膜上的钙通道增多, 钙泵减少; 右侧: 凋亡抵抗的肿瘤细胞, 胞浆钙和内质网钙均降低, 胞膜上的钙通道减少, 钙泵增多.

4 钙信号重构与肿瘤转移

迁移和侵袭是肿瘤转移的先决条件, 对肿瘤病人的预后起着关键作用. 细胞迁移依赖于钙信号在空间和时间上的相互协调. 钙信号在转移过程中起着多种作用, 包括定向感受、细胞骨架重组、牵张力产生、黏着斑重定位、侵袭伪足移动等^[28]. 在这

个过程中, TRP 通道和 SOCE 通道也起着关键作用, 尤其在特定的微区.

在迁移的细胞中, 胞浆钙呈现由尾部到前端逐渐降低的梯度, 这与细胞尾部收缩有关^[60]. 与此同时, 在细胞迁移前端会反复出现钙闪烁(直径为 $5\ \mu\text{m}$, 持续时间为 $10\ \text{ms}\sim 4\ \text{s}$), 它决定着板状伪足周期性收缩和细胞迁移的方向^[61-62]. 钙闪烁由机

械力敏感的 TRPM7 所介导^[61]。迁移过程中细胞前端受到的机械力使区域内的 TRPM7 通道打开, 流入的钙通过 CICR 机制导致内质网的 IP₃R 释放而增高。另外, TRPM7 与 m 钙蛋白酶共存于细胞黏附的局部, 调控黏着斑的组装和周转^[63]。抑制 TRPM7, 许多肿瘤细胞株迁移能力降低, 包括胰腺癌、肺癌和鼻咽癌等^[64-66]。

SOCE 在肿瘤的转移中发挥着重要作用。用 SKF96365 抑制 SOCE, 敲低 STIM1 或 Orai1 可抑制人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和小鼠乳腺肿瘤细胞 4T1 迁移, 并可减少小鼠移植肿瘤的播散, 而过表达 STIM1 和 Orai1 可增强肿瘤细胞侵袭^[67]。这与 SOCE 可诱导黏着斑的周转有关^[67]。在 EGF 刺激的卵巢癌细胞迁移中, SOCE 是钙蛋白酶和 Pyk2 活化所必需的, 调控着黏着斑的动态变化和与肌动球蛋白的重新组装^[68]。STIM1 依赖的钙信号调控着细胞黏附相关的牵张力^[22]。可以推测, 黏着斑微区有着与钙闪烁相似的钙信号。需要进一步精确研究该区域的钙信号, 以揭示引起内质网释放(SOCE 产生的必要条件)的刺激因素。

有报道说 TRPM8 过表达可抑制前列腺癌的迁移^[19,69], 与前述不一致。但是这些实验均是在激素非依赖的前列腺癌细胞株中进行。这个阶段 TRPM8 低表达, 引起相应的信号通路发生改变, 可能原来属于 TRPM8- 促迁移通路的信号分子在受到 TRPM8 刺激的信号时, 反而引起迁移的抑制。这与转录因子 NFAT 既具有促增殖作用, 又可介导凋亡途径是一致的。除此之外, 迁移的钙信号主要表现为微区水平的改变, TRPM8 整体表达的改变对细胞迁移可能影响很小。聚焦到钙微区, 发现 TRPM8 表达增高也未可知。

5 钙信号重构与肿瘤药物研发

随着对肿瘤钙信号研究的增多和深入, 钙通道或钙泵作为药物靶点的潜力也显现了出来。肿瘤细胞往往表现为钙通道或钙泵的表达改变, 利用钙信号的双重性, 对于高表达的钙通道, 可以用拮抗剂来抑制其增殖或转移, 如已进入临床验证的电压非依赖性钙通道的抑制剂 CAI (carboxyamidotriazole), 也可以用激动剂来诱导凋亡, 如用 TRPM8 的激动剂薄荷醇诱导乳腺癌细胞凋亡^[70]。许多肿瘤细胞中高表达的钙通道或钙泵, 在正常组织中的分布非常局限。PMCA2 在多种乳腺癌细胞株中高表达, 而正常情况下其表达局限于中枢神经

系统^[71]。将这些钙通道或钙泵作为靶点, 可特异性地扰乱肿瘤细胞的钙稳态。另一方面, 可利用肿瘤特异性抗原锁定肿瘤细胞, 施加刺激或抑制达到治疗目的。如将前列腺癌特异的丝氨酸蛋白酶前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)的底物作为靶定多肽, SERCA 的抑制剂毒胡萝卜素(thapsigargin, Tg)与该靶定多肽结合形成前体药物^[72]。在前列腺癌中, PSA 裂解多肽释放出 Tg, 使钙不能回收至内质网而导致肿瘤细胞死亡。

位于细胞表面高表达的钙通道或钙泵, 还可以用特异性抗体来达到治疗目的, 其可以作为抗体药物, 也可以作为药物载体来发挥作用。用消减免疫法得到肝癌肿瘤干细胞 Hep-12 表面 L 型钙通道 $\alpha 2\delta 1$ 的特异性抗体, 其对同一来源的肿瘤细胞 Hep-11 无反应^[32]。腹腔内注射该抗体于肿瘤异种移植小鼠内, 可极大地抑制肿瘤生长, 当与阿霉素合用时, 抑制率可达 89.0%^[32]。

许多钙通道或钙泵敲除的小鼠显示了良好的存活能力^[73-74], 表明它们作为靶点毒性较低, 这是钙信号在药物研发中的又一优势。但是, 在这个过程中, 应该注意肿瘤类型、肿瘤发展阶段与钙信号的特异性关系, 有针对性地选取靶点以及药物研发的策略。

6 展 望

生物信息学数据表明, 解码钙信号、介导其信号转导的相关蛋白有 1 000 多种, 约占基因组编码的 7%~9%^[75]。钙信号通过不同的时间、空间和幅度等参数产生不同的生理效应, 并通过钙微区内特定的钙结合蛋白对信号进行解读。肿瘤细胞过度增殖需要特定细胞周期内胞浆钙升高, 表现为不同频率的钙振荡; 而逃避凋亡则需要较低的胞浆钙, 尤其是内质网与线粒体之间降低了的钙转运。在肿瘤发生发展过程中, 早期过表达的胞膜钙通道倾向于调低, 而内质网钙通道表达升高, 有部分胞膜钙通道可定位于内质网, 形成内质网钙释放通道。此外, 不同钙通道之间会发生相互作用, 表达量相互转化, 使肿瘤细胞在凋亡抵抗阶段仍可维持较高的增殖水平。肿瘤细胞转移依赖于钙信号在空间和时间上的相互协调, 表现为整体钙信号和迁移微区钙信号的升高。微区钙信号可能决定细胞迁移的方向。

肿瘤细胞中的钙信号重构作为一个新的研究领域, 近十几年取得了很大进展, 但深度和广度都有

待拓展, 很多研究仅仅限于描述, 对机制的研究基本停留在胞浆整体钙的水平. 从实验方法学上, 几乎所有研究均局限在二维培养体系中, 缺乏三维培养体系和在体研究. 体现与外界环境相互作用的机械力、钙与肿瘤发生发展的研究刚刚起步, 与肿瘤发生密切相关的肿瘤异常分化和肿瘤干细胞的钙重构数据也极为匮乏. 进一步的研究还需要清楚每种肿瘤细胞中钙信号组的整体情况, 包括表达、活性、位置, 与肿瘤分级的关系, 与增殖、凋亡、迁移、分化等生物学过程的关系等, 明确钙信号在肿瘤发生发展中的“启动”作用或“伴随”作用, 必将对肿瘤的诊断和治疗有更大的贡献.

参 考 文 献

- [1] Fraiman D, Ponce-Dawson S. Buffer regulation of calcium puff sequences. *Phys Biol*, 2014, **11**(1): 016007 (11pp)
- [2] Cheng H, Lederer W J, Cannell M B. Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle. *Science*, 1993, **262**(5134): 740-744
- [3] Cheng H, Lederer W J. Calcium sparks. *Physiol Rev*, 2008, **88**(4): 1491-1545
- [4] Monteith G R, Davis F M, Roberts-Thomson S J. Calcium channels and pumps in cancer: changes and consequences. *J Biol Chem*, 2012, **287**(38): 31666-31673
- [5] Kahl C R, Means A R. Regulation of cell cycle progression by calcium/calmodulin-dependent pathways. *Endocr Rev*, 2003, **24**(6): 719-736
- [6] Roderick H L, Cook S J. Ca^{2+} signalling checkpoints in cancer: remodelling Ca^{2+} for cancer cell proliferation and survival. *Nat Rev Cancer*, 2008, **8**(5): 361-375
- [7] Panner A, Wurster R D. T-type calcium channels and tumor proliferation. *Cell Calcium*, 2006, **40**(2): 253-259
- [8] Wissenbach U, Niemeyer B A, Fixemer T, *et al.* Expression of CaT-like, a novel calcium-selective channel, correlates with the malignancy of prostate cancer. *J Biol Chem*, 2001, **276**(22): 19461-19468
- [9] Fixemer T, Wissenbach U, Flockerzi V, *et al.* Expression of the Ca^{2+} -selective cation channel TRPV6 in human prostate cancer: a novel prognostic marker for tumor progression. *Oncogene*, 2003, **22**(49): 7858-7861
- [10] Lehen'kyi V, Flourakis M, Skryma R, *et al.* TRPV6 channel controls prostate cancer cell proliferation *via* Ca^{2+} /NFAT-dependent pathways. *Oncogene*, 2007, **26**(52): 7380-7385
- [11] Zhuang L, Peng J B, Tou L, *et al.* Calcium-selective ion channel, CaT1, is apically localized in gastrointestinal tract epithelia and is aberrantly expressed in human malignancies. *Lab Invest*, 2002, **82**(12): 1755-1764
- [12] Thebault S, Flourakis M, Vanoverberghe K, *et al.* Differential role of transient receptor potential channels in Ca^{2+} entry and proliferation of prostate cancer epithelial cells. *Cancer Res*, 2006, **66**(4): 2038-2047
- [13] Prevarskaya N, Skryma R, Shuba Y. Ion channels and the hallmarks of cancer. *Trends Mol Med*, 2010, **16**(3): 107-121
- [14] Liou J, Kim M L, Heo W D, *et al.* STIM is a Ca^{2+} sensor essential for Ca^{2+} -store-depletion-triggered Ca^{2+} influx. *Curr Biol*, 2005, **15**(13): 1235-1241
- [15] Roos J, DiGregorio P J, Yeromin A V, *et al.* STIM1, an essential and conserved component of store-operated Ca^{2+} channel function. *J Cell Biol*, 2005, **169**(3): 435-445
- [16] Feske S, Gwack Y, Prakriya M, *et al.* A mutation in Orai1 causes immune deficiency by abrogating CRAC channel function. *Nature*, 2006, **441**(7090): 179-185
- [17] Vig M, Peinelt C, Beck A, *et al.* CRACM1 is a plasma membrane protein essential for store-operated Ca^{2+} entry. *Science*, 2006, **312**(5777): 1220-1223
- [18] Zhang S L, Yeromin A V, Zhang X H, *et al.* Genome-wide RNAi screen of Ca^{2+} influx identifies genes that regulate Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channel activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(24): 9357-9362
- [19] McAndrew D, Grice D M, Peters A A, *et al.* ORAI1-mediated calcium influx in lactation and in breast cancer. *Mol Cancer Ther*, 2011, **10**(3): 448-460
- [20] Li W, Zhang M, Xu L, *et al.* The apoptosis of non-small cell lung cancer induced by cisplatin through modulation of STIM1. *Exp Toxicol Pathol*, 2013, **65**(7-8): 1073-1081
- [21] Umemura M, Baljinnam E, Feske S, *et al.* Store-operated Ca^{2+} entry (SOCE) regulates melanoma proliferation and cell migration. *PLoS One*, 2014, **9**(2): e89292
- [22] Chena Y F, Chiu W T, Chen Y T, *et al.* Calcium store sensor stromal-interaction molecule 1-dependent signaling plays an important role in cervical cancer growth, migration, and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(37): 15225-15230
- [23] Zhu H, Zhang H, Jin F, *et al.* Elevated Orai1 expression mediates tumor-promoting intracellular Ca^{2+} oscillations in human esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, 2014, **5**(11): 3455-3471
- [24] Feng M, Grice D M, Faddy H M, *et al.* Store-independent activation of Orai1 by SPCA2 in mammary tumors. *Cell*, 2010, **143**(1): 84-98
- [25] Feng M Y, Rao R. New insights into store-independent Ca^{2+} entry: secretory pathway calcium ATPase 2 in normal physiology and cancer. *Int J Oral Sci*, 2013, **5**(2): 71-74
- [26] Gray L S, Perez-Reyes E, Gamorra J C, *et al.* The role of voltage gated T-type Ca^{2+} channel isoforms in mediating "capacitative" Ca^{2+} entry in cancer cells. *Cell Calcium*, 2004, **36**(6): 489-497
- [27] Gackière F, Bidaux G, Delcourt P, *et al.* $\text{Ca}_v3.2$ T-type calcium channels are involved in calcium-dependent secretion of neuroendocrine prostate cancer cells. *J Biol Chem*, 2008, **283**(15): 10162-10173
- [28] Toyota M, Ho C, Ohe-Toyota M, *et al.* Inactivation of CACNA1G, a T-type calcium channel gene, by aberrant methylation of its 5' CpG island in human tumors. *Cancer Res*, 1999, **59**(18): 4535-

- 4541
- [29] Yu W, Wang P, Ma H, *et al.* Suppression of T-type Ca^{2+} channels inhibited human laryngeal squamous cell carcinoma cell proliferation running title: roles of T-type Ca^{2+} channels in LSCC cell proliferation. Clin Lab, 2014, **60**(4): 621–628
- [30] Ohkubo T, Yamazaki J. T-type voltage-activated calcium channel $\text{Ca}_v3.1$, but not $\text{Ca}_v3.2$, is involved in the inhibition of proliferation and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. Int J Oncol, 2012, **41**(1): 267–275
- [31] Chen R, Zeng X, Zhang R, *et al.* $\text{Ca}_v1.3$ channel $\alpha 1D$ protein is overexpressed and modulates androgen receptor transactivation in prostate cancers. Urol Oncol, 2014, **32**(5): 524–536
- [32] Zhao W, Wang L M, Han H B, *et al.* 1B50-1, a mAb raised against recurrent tumor cells, targets liver tumor-initiating cells by binding to the calcium channel $\alpha 2\gamma 1$ subunit. Cancer Cell, 2013, **23**(4): 541–556
- [33] Ay A S, Benzerdjeb N, Sevestre H, *et al.* Orai3 constitutes a native store-operated calcium entry that regulates nonsmall cell lung adenocarcinoma cell proliferation. PLoS One, 2013, **8**(9): e72889
- [34] Reisner P D, Brandt P C, Vanaman T C. Analysis of plasma membrane Ca^{2+} -ATPase expression in control and SV40-transformed human fibroblasts. Cell Calcium, 1997, **21**(1): 53–62
- [35] Aung C S, Ye W, Plowman G, *et al.* Plasma membrane calcium ATPase 4 and the remodeling of calcium homeostasis in human colon cancer cells. Carcinogenesis, 2009, **30**(11): 1962–1969
- [36] Lee W J, Roberts-Thomson S J, Holman N A, *et al.* Expression of plasma membrane calcium pump isoform mRNAs in breast cancer cell lines. Cell Signal, 2002, **14**(12): 1015–1022
- [37] Lee W J, Roberts-Thomson S J, Monteith G R. Plasma membrane calcium-ATPase 2 and 4 in human breast cancer cell lines. Biochem Biophys Res Commun, 2005, **337**(3): 779–783
- [38] Pinton P, Giorgi C, Siviero R, *et al.* Calcium and apoptosis: ER-mitochondria Ca^{2+} transfer in the control of apoptosis. Oncogene, 2008, **27**(50): 6407–6418
- [39] Wang H G, Pathan N, Ethell I M, *et al.* Ca^{2+} -induced apoptosis through calcineurin dephosphorylation of BAD. Science, 1999, **284**(5412): 339–343
- [40] Jayanthi S, Deng X, Ladenheim B, *et al.* Calcineurin/NFAT-induced up-regulation of the Fas ligand/Fas death pathway is involved in methamphetamine-induced neuronal apoptosis. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, **102**(3): 868–873
- [41] Rao R V, Ellerby H M, Bredesen D E. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. Cell Death Differ, 2004, **11**(4): 372–380
- [42] Hara Y, Wakamori M, Ishii M, *et al.* LTRPC2 Ca^{2+} -permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. Mol Cell, 2002, **9**(1): 163–173
- [43] Feng Y H, Li X, Wang L, *et al.* A truncated P2X_7 receptor variant (P2X_{7-j}) endogenously expressed in cervical cancer cells antagonizes the full-length P2X_7 receptor through hetero-oligomerization. J Biol Chem, 2006, **281**(25): 17228–17237
- [44] Vanden Abeele F, Skryma R, Shuba Y, *et al.* Bcl-2-dependent modulation of Ca^{2+} homeostasis and store-operated channels in prostate cancer cells. Cancer Cell, 2002, **1**(2): 169–179
- [45] VanHouten J, Sullivan C, Bazinet C, *et al.* PMCA2 regulates apoptosis during mammary gland involution and predicts outcome in breast cancer. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, **107**(25): 11405–11410
- [46] Vance J E. Phospholipid synthesis in a membrane fraction associated with mitochondria. J Biol Chem, 1990, **265**(13): 7248–7256
- [47] Rizzuto R, Pozzan T. Microdomains of intracellular Ca^{2+} : molecular determinants and functional consequences. Physiol Rev, 2006, **86**(1): 369–408
- [48] Patergnani S, Suski J M, Agnoletto C, *et al.* Calcium signaling around mitochondria associated membranes (MAMs). Cell Commun Signal, 2011, **9**: 19
- [49] Oakes S A, Scorrano L, Opferman J T, *et al.* Proapoptotic BAX and BAK regulate the type I inositol trisphosphate receptor and calcium leak from the endoplasmic reticulum. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, **102**(1): 105–110.
- [50] Szado T, Vanderheyden V, Parys J B, *et al.* Phosphorylation of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptors by protein kinase B/Akt inhibits Ca^{2+} release and apoptosis. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, **105**(7): 2427–2432.
- [51] Pinton P, Ferrari D, Rapizzi E, *et al.* The Ca^{2+} concentration of the endoplasmic reticulum is a key determinant of ceramide-induced apoptosis: significance for the molecular mechanism of Bcl-2 action. EMBO J, 2001, **20**(11): 2690–2701
- [52] Bidaux G, Flourakis M, Thebault S, *et al.* Prostate cell differentiation status determines transient receptor potential melastatin member 8 channel subcellular localization and function. J Clin Invest, 2007, **117**(6): 1647–1657
- [53] Tsavaler L, Shapero M H, Morkowski S, *et al.* Trp-p8, a novel prostate-specific gene, is up-regulated in prostate cancer and other malignancies and shares high homology with transient receptor potential calcium channel proteins. Cancer Res, 2001, **61**(9): 3760–3769
- [54] Bidaux G, Roudbaraki M, Merle C, *et al.* Evidence for specific TRPM8 expression in human prostate secretory epithelial cells: functional androgen receptor requirement. Endocr Relat Cancer, 2005, **12**(2): 367–382
- [55] Henshall S M, Afar D E, Hiller J, *et al.* Survival analysis of genome-wide gene expression profiles of prostate cancers identifies new prognostic targets of disease relapse. Cancer Res, 2003, **63**(14): 4196–4203
- [56] Nilius B, Owsianik G, Voets T, *et al.* Transient receptor potential cation channels in disease. Physiol Rev, 2007, **87**(1): 165–217
- [57] Vanden Abeele F, Skryma R, Shuba Y, *et al.* Bcl-2-dependent modulation of Ca^{2+} homeostasis and store-operated channels in prostate cancer cells. Cancer cell, 2002, **1**(2): 169–179
- [58] Taylor J T, Zeng X B, Pottle J E, *et al.* Calcium signaling and T-type calcium channels in cancer cell cycling. World J Gastroenterol, 2008, **14**(32): 4984–4991

- [59] Dubois C, Vanden Abeele F, V 'yacheslav Lehen' ky, *et al.* Remodeling of channel-forming ORAI proteins determines an oncogenic switch in prostate cancer. *Cancer Cell*, 2014, **26**(1): 19–32
- [60] Blaser H, Reichman-Fried M, Castanon I, *et al.* Migration of zebrafish primordial germ cells: a role for myosin contraction and cytoplasmic flow. *Dev Cell*, 2006, **11**(5): 613–627
- [61] Wei C, Wang X, Chen M, *et al.* Calcium flickers steer cell migration. *Nature*, 2009, **457**(7231): 901–905
- [62] Tsai F C, Meyer T. Ca^{2+} pulses control local cycles of lamellipodia retraction and adhesion along the front of migrating cells. *Curr Biol*, 2012, **22**(9): 837–842
- [63] Su L T, Agapito M A, Li M, *et al.* TRPM7 regulates cell adhesion by controlling the calcium dependent protease calpain. *J Biol Chem*, 2006, **281**(16): 11260–11270
- [64] Rybarczyk P, Gautier M, Hague, *et al.* Transient receptor potential melastatin-related 7channel is overexpressed in human pancreatic ductal adenocarcinomas and regulates human pancreatic cancer cell migration. *Int J Cancer*, 2012, **131**(6): E851–E861
- [65] Gao H, Chen X, Du X, *et al.* EGF enhances the migration of cancer cells by up-regulation of TRPM7. *Cell Calcium*, 2011, **50**(6): 559–568
- [66] Chen J P, Luan Y, You C X, *et al.* TRPM7 regulates the migration of human nasopharyngeal carcinoma cell by mediating Ca^{2+} influx. *Cell Calcium*, 2010, **47**(5): 425–432
- [67] Yang S, Zhang J J, Huang X Y. Orai1 and STIM1 are critical for breast tumor cell migration and metastasis. *Cancer Cell*, 2009, **15**(2): 124–134
- [68] Chen Y F, Chiu W T, Chen Y T, *et al.* Calcium store sensor stromal interaction molecule 1-dependent signaling plays an important role in cervical cancer growth, migration, and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(37): 15225–15230
- [69] Zhang L, Barritt G J. Evidence that TRPM8 is an androgen dependent Ca^{2+} channel required for the survival of prostate cancer cells. *Cancer Res*, 2004, **64**(22): 8365–8373
- [70] Azimi, Roberts-Thomson S J, Monteith G R. Calcium influx pathways in breast cancer: opportunities for pharmacological intervention. *Brit J Pharmacol*, 2014, **171**(4): 945–960
- [71] Stauffer T P, Guerini D, Carafoli E. Tissue distribution of the four gene products of the plasma membrane Ca^{2+} pump. A study using specific antibodies. *J Biol Chem*, 1995, **270**(20): 12184–12190
- [72] Denmeade S R, Isaacs J T. The SERCA pump as a therapeutic target: making a "smart bomb" for prostate cancer. *Cancer Biol Ther*, 2005, **4**(1): 14–22
- [73] Prasad V, Okunade G W, Miller M L, *et al.* Phenotypes of SERCA and PMCA knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **322**(4): 1192–1203
- [74] Caterina M J, Leffler A, Malmberg A B, *et al.* Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science*, 2000, **288**(5464): 306–313
- [75] Cheng H P, Wei S, Wei L P, *et al.* Calcium signaling in physiology and pathophysiology. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, **27**(764): 767–772

Dysregulation of Calcium Signaling in Tumor Formation and Progression

SUN Cui-Wei, WANG Xian-Hua, CHENG He-Ping*

(Institute of Molecular Medicine, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract Calcium ion plays vital roles in virtually all aspects of cell physiology and biology. Dysregulation of calcium homeostasis emerges as an important hallmark for tumor cells. Remodeling in the expression, activities, and localizations of calcium channels and transporters is common to tumor progression. Elevated intracellular calcium prompts uncontrolled growth during tumor formation, whereas lowered calcium appears to be anti-apoptotic in the later phase of tumor progression. Moreover, local and global calcium oscillations may facilitate and guide cell migration in metastasis. These recent advances suggest that targeting calcium signaling may afford potential therapeutic strategies to intervene the tumor formation and progression.

Key words calcium signaling, tumor, proliferation, apoptosis, metastasis

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2014.00252

*Corresponding author.

Tel: 86-10-62765957, E-mail: chenghp@pku.edu.cn

Received: September 3, 2014 Accepted: September 10, 2014