

钙稳态失衡与癌细胞抑制*

孙恩杰** 闫玉华 徐运华

(武汉理工大学理学院, 武汉 430070)

摘要 细胞胞浆钙离子浓度必须处于严格的调控之中, 钙稳态失调必将导致细胞严重损伤或死亡(凋亡或坏死)。综述了钙稳态失调在外界因素引起细胞死亡中的作用、直接钙稳态失调的细胞死亡效应、以及钙离子在细胞凋亡中的作用, 并讨论了上述作用的机制, 最后在总结基础上提出了一种抑癌新途径——选择性引发癌细胞钙稳态失衡。

关键词 钙离子, 钙稳态, 细胞凋亡, 癌细胞抑制

学科分类号 Q582

细胞的许多重要生理代谢活动都与胞内钙离子浓度有关, 胞内外存在巨大的浓度梯度, 胞内钙离子浓度提高通常是一种生理信号, 介导许多重要的生理反应, 此即钙离子的第二信使作用。钙离子作为第二信使, 介导的生理反应很多且很重要, 与细胞的许多功能相关, 如: 细胞增殖、分裂、运动、分泌、形态发生、能量代谢、氧代谢、糖代谢等。因此, 细胞内钙离子浓度处于严格的调节控制之中。正常情况下, 完整而严格的钙稳态调节机制维持着胞内外巨大的钙离子浓度梯度, 这种巨大的钙离子浓度梯度也使细胞处于一种永恒的危险境地, 易于受到许多因素的影响, 从而影响钙信号机制, 导致细胞误反应, 严重时诱导细胞损伤, 而钙拮抗剂可保护细胞免于此类损伤, 另一方面, 人们发现, 将钙离子导入细胞可引发细胞凋亡或损伤。本文即从如下几个方面综述钙稳态失衡与细胞损伤或死亡的关系: 钙稳态失调在外界因素引起细胞死亡或损伤中的作用, 钙稳态机制破坏与细胞损伤或死亡的关系, 钙离子在细胞凋亡中的作用。这些结果综合考虑应使我们得到一种重要启示: 选择性引发癌细胞钙稳态失调应当是一种抑癌新策略。

1 外因致细胞损伤与钙失衡有关

1.1 缺血、缺氧损伤与胞内钙离子浓度升高有关

缺血缺氧时, 神经细胞、心肌细胞、肝细胞等胞内均有钙离子浓度升高, 严重时导致细胞死亡^[1]。实际上, 动物在持续缺氧状态下, 其脑、心、肝、肌肉、肾脏、肺等组织细胞内钙离子均明显升高^[2], 而且这些缺血组织再灌注时, 胞内钙离子均继续大量增加, 造成细胞损伤。

缺血缺氧钙超载机制可能是: 此种状态下, ATP生成迅速减少, 使胞膜上离子泵功能下降, 同时胞外钙内流增加所致。

1.2 氧化性损伤与钙平衡紊乱有关

过氧化氢 60 s 内可诱导培养的动脉内皮细胞钙离子增加, 钙离子浓度升高的水平与细胞死亡率正相关。用 t-J 过氧化氢处理肝细胞, 可使线粒体和线粒体外储存的钙离子释放^[3]。用氧自由基(O_2^-)作用于分离的线粒体, 可立即引起线粒体钙离子流出。而超氧化物对细胞的损伤则是通过抑制钙离子内流而完成。某些试剂如: 肿瘤坏死因子(TNF)、糖皮质激素、化疗制剂等也常导致细胞内产生活性氧, 导致胞质内钙离子浓度增加^[4], 它们对细胞的损伤也与此有关。

氧化性应激使胞内 GSH/GSSH 比值下降, 引起膜通道蛋白变构, 使钙离子内流增加, 内质网钙离子通道蛋白功能性巯基结构改变, 钙离子大量异常释放, 致使钙超载。

1.3 膜毒性物质损伤细胞与钙离子有关

CCl_4 、疏水性胆盐等直接损伤细胞膜, 增高其通透性, 钙离子跨膜内流增加^[5], 产生胞内钙超载, 从而损伤细胞。

1.4 其他因素引起钙超载

事实上, 凡是能够影响钙稳态机制的因素均可导致钙平衡失调, 并产生病理反应。如: Ryanidine 和 IP_3 分别与各自受体结合后, 受体构

* 国家自然科学基金资助项目 (39770225)。

** 通讯联系人。

Tel: 027-87651852, E-mail: wangxx@public.wh.hb.cn

收稿日期: 2000-11-27, 接受日期: 2000-12-14

象发生变化而使内质网钙离子通道开放. 维生素 D₃ 加紫外照射已被用作心肌钙超载模型^[6]. 它们都可产生一定程度的病理反应.

1.5 钙拮抗剂对细胞的保护作用

糖皮质激素诱导的胸腺细胞凋亡时需要外钙存在, 胞外钙离子螯合剂 EGTA 可抑制凋亡^[7]. 三尖杉酯碱、喜树碱诱导的 HL-60 细胞凋亡可被胞内钙离子螯合剂 BAPTA-AM 抑制.

在脑缺血性损伤中, 氟桂嗪和尼莫地平可阻断缺血引发的钙超载, 从而可以保护缺氧的神经元, 缺血前及缺血后使用该两种药均可显著减轻缺血对脑细胞的损害程度, 减少坏死区域. 一个新的广谱性神经元钙离子通道抑制剂 SB201823-A, 则能阻断所有类型的电压门控及配体门控钙离子通道, 具有更好的神经保护作用. 维拉帕米是一种钙离子通道抑制剂, 在心脑缺血前用药, 对心脏有明显的保护作用^[8].

2 直接破坏钙稳态机制导致细胞死亡或损伤

Duke 等^[9]扼要的综述中有许多证据表明: 钙离子直接导入细胞或抑制钙外排引起细胞凋亡、损伤或坏死. 钙离子载体 A23187 与胞外钙离子共存时, 通过导致非生理性外钙内流, 引发卵巢癌细胞株凋亡, A23187 还可诱导胸腺细胞和白血病 B 细胞的凋亡. A23187 也诱导两种前列腺癌细胞株凋亡. 用钙离子载体处理转染 BRCA1 的鼠成纤维细胞和人乳腺癌细胞株可导致细胞凋亡. 另一种钙离子载体 ionomycin 可诱导人非雄性激素依赖性前列腺癌细胞的凋亡.

有人认为, 凋亡是由钙转运系统把钙离子带入核中激活核酸内切酶引起 DNA 断裂而引发^[10]. 虽然对钙引发凋亡还存在着不同看法^[9], 但一般认为钙离子浓度升高是大多数细胞凋亡所必需的, 因为许多研究表明, 凋亡引发过程中需要胞内钙离子浓度升高^[5, 8, 11], 而且阻断此种升高将阻断凋亡^[12].

也有人认为, 钙离子直接导入细胞引发细胞坏死而非凋亡, Duke 等^[9]报道, A23187 或一些形成膜孔的试剂的确引发了钙离子浓度升高和核小体 DNA 断裂, 但这些并非引发凋亡, 而是导致细胞坏死.

钙-ATP 酶的抑制剂 thapsigargin 阻断了钙外排, 诱导人乳腺癌细胞凋亡^[13].

3 钙离子在细胞凋亡中的作用

3.1 多数细胞凋亡依赖于钙离子

不仅细胞损伤与钙超载有关, 而且钙离子是许多细胞凋亡信号转导的重要载体. 虽然关于钙离子在细胞凋亡中的作用还存在着一定的争论, 但大多数类型细胞凋亡过程依赖于钙离子: 有时依赖于胞外钙离子, 有时依赖于胞内钙离子. 糖皮质激素诱导胸腺细胞凋亡需要胞外钙存在^[10], 胞内钙离子浓度升高是糖皮质激素诱导的胸腺细胞凋亡中的一个早期事件^[14], 而 Fas 配体诱导的 T 细胞凋亡, 三尖杉酯碱、喜树碱诱导 HL-60 细胞凋亡均与胞内钙离子有关. 大多数学者认为细胞凋亡与胞内钙有关时可能存在胞内钙的分布变化.

3.2 抑癌物诱导癌细胞凋亡通过钙离子介导

肿瘤坏死因子诱发人类乳腺癌细胞株凋亡时与核内自由钙离子增加有关^[8]. NK 细胞对靶细胞的细胞毒性依赖于靶细胞中的钙离子浓度升高^[14]. 三尖杉酯碱、喜树碱诱导 HL-60 细胞凋亡均与胞内钙离子有关. 一叶秋碱通过促进外钙内流升高胞内钙离子浓度, 可诱导 K562 细胞凋亡^[15]. 顺铂通过细胞内钙离子变化, 诱导人卵巢癌细胞凋亡, 是顺铂抑制卵巢肿瘤生长的机理之一^[16]. 5-氟尿嘧啶使人卵巢癌细胞内钙离子浓度升高, 同时出现了细胞凋亡的形态改变^[17]. 钙离子在这些抑癌物的抑癌作用中可能起着凋亡信号传导的作用.

3.3 钙传导凋亡信号的机制

由上所述可见钙离子是细胞凋亡信号传导的一种重要途径, 然而钙离子怎样诱导凋亡, 即钙离子通过哪些途径传递凋亡信号, 目前还所知甚少, 一般认为主要有以下几种途径: a. 通过钙离子依赖性核酸内切酶, 胞内钙离子浓度升高可激活该酶, 该酶作用于 DNA, 将 DNA 降解成 185 bp 左右的片段或其整数倍长的片段, 此即凋亡细胞 DNA 电泳时所得到的梯状条带. b. 钙离子直接作用于核内转录因子 (FOS、JUN、NUR77), 从而调节特定蛋白质的表达. c. 激活谷氨酰胺转移酶, 该酶催化蛋白间的交联, 在凋亡过程中可能与凋亡体形成有关. d. 通过磷酸酯酶起作用, 如: calcineurin, 该酶需要钙离子激活, 在几种细胞的钙离子依赖性凋亡中起作用. e. 通过钙离子或 Ca²⁺-CaM 依赖性蛋白酶, 如: 中性蛋白酶 calpain、核骨架蛋白酶 (nuclea scaffold, NS) 等^[18].

4 抑制癌细胞的一种新途径

综上所述,许多因素导致细胞损伤或死亡与引起钙稳态失调有关,有人甚至认为细胞内钙稳态失调是许多外界因素引起细胞死亡(凋亡及坏死)的共同机制;许多癌细胞抑制物在抑制癌细胞过程中均有钙离子浓度升高参与,而单独胞内钙离子浓度的非生理性变化在很多情况下都可导致细胞凋亡或损伤,因此,如果有一种方法能够选择性引起癌细胞内钙离子浓度非生理性变化而不影响正常细胞中的浓度,则这种方法可能成为一种选择性抑制癌细胞的新途径。目前我们已制备出一种特殊的纳米材料,该材料在体外可选择性引起多种癌细胞内钙离子浓度升高,并且引起癌细胞的抑制,而对正常细胞无影响,进一步的研究正在进行中。

参 考 文 献

- 1 张永刚. 肝细胞钙超载与肝细胞损伤, 国外医学: 生理、病理科学与临床分册, 1997, **17** (3): 255~ 258
Zhang Y G. Medicine Overseas: Pathology and Clinics, 1997, **17** (3): 255~ 258
- 2 Koike K, Moore E E, Moore F A, *et al.* Phospholipase A₂ inhibitor decouples lung injury from gut ischemiareperfusion. Surgery, 1992, **112** (1): 173~ 179
- 3 Bellomo G, Fulceri R, Albano E, *et al.* Calcium-dependent and independent mitochondrial damage in hepatocellular injury. Cell Calcium, 1991, **12** (5): 335~ 341
- 4 方福德, 杨焕明, 张德昌, 等. 分子生物学前沿技术. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998. 103
Fang F D, Yang H M, Zhang D C, *et al.* Advances in Technology of Molecular Biology. Beijing: Joint Press of Beijing Medical University and Xiehe Medical University in China, 1998. 103
- 5 Trump B F, Berezsky I K. The role of cytoplasmic Ca²⁺ in cell injury, necrosis and apoptosis. Curr Opin Cell Biol, 1992, **4** (1): 227~ 232
- 6 王培勇, 李 夏, 姚兴海, 等. 钙超载大鼠心肌细胞核钙转运功能的改变. 基础医学与临床, 1999, **19** (2): 30~ 33
Wang P Y, Li X, Yao X H, *et al.* Basic Medicine and Clinics, 1999, **19** (2): 30~ 33
- 7 McConkey D J, Aguilar-Santelises M, Hartzell P, *et al.* Induction of DNA fragmentation in chronic B-lymphocytic leukemia cells. J Immunol, 1991, **146** (3): 1072~ 1076
- 8 Bellomo G, Perotti M, Taddei F, *et al.* Tumor necrosis factor α induces apoptosis in mammary adenocarcinoma cells by an increase in intranuclear free Ca²⁺ concentration and DNA fragmentation. Cancer Research, 1992, **52** (5): 1342~ 1346
- 9 Duke E C, Witter R Z, Nash P B, *et al.* Cytolysis mediated by ionophores and pore-forming agents: role of intracellular calcium in apoptosis. FASEB J, 1994, **8** (2): 237~ 246
- 10 Kaiser N, Edelman I S. Calcium dependence of glucocorticoid-induced lymphocytosis. Proc Natl Acad Sci USA, 1977, **74** (2): 638~ 642
- 11 Joseph R, Li W, Han E. Neuronal death, cytoplasmic calcium and internucleosomal DNA fragmentation: evidence for DNA fragments being released from cells. Brain Res Mol Brain Res, 1993, **17** (1): 70~ 76
- 12 Story M D, Stephens L C, Tomasovic S P, *et al.* A role for calcium in regulating apoptosis in rat thymocytes irradiated *in vitro*. Int J Radiat Biol, 1992, **61** (2): 243~ 251
- 13 Qi X M, He H, Zhong H, *et al.* Baculovirus p35 and Z-VAD-fmk inhibit thapsigargin-induced apoptosis of breast cancer cells. Oncogene, 1997, **15** (10): 1207~ 1212
- 14 McConkey D J, Chow S C, Orrenius S, *et al.* NK cell-induced cytotoxicity is dependent on a Ca²⁺ increase in the target. FASEB J, 1990, **4** (25): 2661~ 2664
- 15 刘卫军, 顾振纶, 周文轩, 等. 一叶秋碱诱导 K562 细胞凋亡及对 [Ca²⁺]_i 的影响. 苏州医学院学报, 1998, **18** (11): 1127~ 1128
Liu W J, Gu Z L, Zhou W X, *et al.* J Suzhou Medical College, 1998, **18** (11): 1127~ 1128
- 16 刘 勤, 陈 藏, 李 旭, 等. 顺铂诱导人卵巢癌 AO 10/17 细胞凋亡的实验研究. 中华妇产科杂志, 1998, **33** (7): 422~ 424
Liu Q, Chen W, Li X, *et al.* Journal of Obstetrics and Gynecology in China, 1998, **33** (7): 422~ 424
- 17 陈 藏, 李 旭, 杨玉琮, 等. 5-氟尿嘧啶诱导人卵巢癌细胞凋亡的实验研究. 肿瘤防治研究, 1998, **25** (2): 100~ 101
Chen W, Li X, Yang Y Z, *et al.* Research on Prevention and Treatment of Tumor, 1998, **25** (2): 100~ 101
- 18 刘景生, 肖殿模, 潘华珍, 等. 细胞信息与调控——现代生物医学丛书. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1999. 334~ 344
Liu J S, Xiao D M, Pan H Z, *et al.* Signal of Cell and Its Regulation: Collection of Modern Biology and Medicine. Beijing: Joint Press of Beijing Medical University and Xiehe Medical University in China, 1999. 334~ 344

Disequilibrium of Calcium Homeostasis and Inhibition of Cancer Cell*

SUN En-Jie**, YAN Yu-Hua, XU Yun-Hua

(College of Science, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China)

Abstract The concentration of calcium ion in cytoplasm is in strict control. Disequilibrium of calcium homeostasis will result in severe injury even death of cells. The roles of such disequilibrium in cells death resulted from exogenous factors, evidences of direct lethal effect of the disequilibrium on cell and effects of calcium ion in apoptosis were reviewed. Mechanisms of these effects were discussed. In the end, on the basis of summary, a

new way to inhibit cancer cell was suggested, by inducing disorder of calcium homeostasis selectively in cancer cells.

Key words calcium ion, calcium homeostasis, apoptosis, inhibition of cancer cell

* This work was supported by a grant from the National Nature Sciences Foundation of China (39770225).

** Corresponding author. Tel: 86-27-87651852, E-mail: wangxx@public.wh.hb.cn

Received: November 27, 2000 Accepted: December 14, 2000

药物基因组学简介

孙乐非 马登科

(清华大学基础科学班, 北京 100084)

随着人类基因组计划的飞速发展, 以及近几年里国际上大批知名的大型制药集团和化学工业公司在基因组领域内的大量投资, 使能获得大量经济效益的药物基因组学 (pharmacogenomics) 逐渐成为后基因组时代中最引人注目, 发展最迅猛的学科之一。

药物基因组学目前发展的最新趋势就是将最近几年由研究人类基因组与功能基因组而发展起来的许多新技术 (如高通量扫描, 生物芯片, 高密度单核苷酸多态性 (SNP) 遗传图谱, 生物信息学等) 与知识融入到分子医学、药理学、毒理学等诸多领域, 并运用这些技术与知识大规模系统地从整个基因组层面去研究不同个体的基因差异与药物效应的关联, 侧重于了解有重要功能意义和控制药物代谢与处置的多态性基因, 以求探明药理学作用的分子机制以及各种疾病致病的遗传学机理, 从而最终达到精确指导药物开发的目的。

研究药物的个体差异效应不仅是药物基因组学的核心内容也是临床治疗上的一个重大难题。分子水平的遗传多态性是产生这种个体差异最主要的因素, 以往的研究多集中在药物代谢酶的多态性这一层次。药物基因组学最新的进展和未来的重点方向则是药物转运体的多态性和药物受体的多态性。

药物基因组学的传统分析方法主要有基因和表达两个

分析层次。基因层次分析方法的最新进展是采用基于 SNPs 的高密度遗传图谱运用关联分析和连锁分析等手段寻找药物基因组学标记, 目前 SNPs 已经成为在药物基因组学实际应用中进行分析的首选标记, 但其具体操作过程仍不完善, 许多地方有待进一步改进; 表达分析则主要分析药物作用后 RNA 和蛋白质的表达效果, 结合蛋白质组学的快速发展, 将会发展出新的表达分析手段。

药物基因组学研究目前存在的主要问题是: 还未形成大规模系统性的关于不同病人药物差异效应的临床数据, 对优化基因型及生物统计学工具的缺乏等因素均阻碍了基于 SNP 的大规模关联分析。另外, 药物基因组学与蛋白质组学、表达分析、生物芯片等组合将把基因组数据与 mRNA 和蛋白质的表达信息整合起来。将来新的整合了高密度寡聚核苷酸微阵列与激光解析电离飞行时间质谱分析技术 (MALDI-TOF-MS) 的高通量技术也将进一步应用在药物基因组学中。

最关键的是: 对药物基因组学的进一步研究与应用将会给药物开发、临床治疗、分子医学带来一次突破性的革命, 不仅揭示药物效应基因组层次的遗传学基础而且将最终实现根据不同病人的基因差异而选择更加科学优化的治疗方案与剂量, 达到药物治疗的个人化、安全化、经济化。