

选择素与肿瘤转移*

魏 民 曾宪录**

(东北师范大学生命科学学院, 长春 130024)

摘要 选择素是已知的细胞粘附分子家族之一, 其生理功能是在炎症发生时介导白细胞与血管内皮间的起始粘附. 近年来, 大量实验证据表明选择素在肿瘤转移的过程中也起重要作用, 主要是介导肿瘤细胞与血小板及血管内皮间的起始粘附, 另外选择素及其配体也可以作为信号分子促进肿瘤的转移. 因此, 在将来的临床应用中, 选择素及其配体可以作为血清诊断标记监控肿瘤及肿瘤转移的发生; 通过抑制选择素与其配体的相互作用, 或阻断选择素表达的途径防止肿瘤转移.

关键词 选择素, 肿瘤转移, 作用机制, 临床应用

学科分类号 R73

尽管选择素 (selectin) 作为细胞粘附分子的一个家族被发现只有 10 年左右的时间, 但有关它们参与多种生理和病理过程的研究却有了飞速的发展. 选择素的主要功能是在炎症发生时, 介导白细胞与血管内皮的起始粘附, 以及介导白细胞之间、白细胞与血小板之间的粘附. 近年来, 又有大量的证据表明, 选择素在肿瘤转移的过程中, 可以介导经血液转移的肿瘤细胞与血小板及血管内皮的粘附. 而且相当多的研究已经致力于探讨选择素是否可以作为抗肿瘤转移的一个新的作用靶点. 本文综述了选择素参与肿瘤转移的证据及可能的作用机制, 同时对选择素在抗肿瘤转移中临床应用的可能性进行了讨论.

1 选择素的生理功能、结构及配体

现在已知的细胞粘附分子至少可以被分为 5 个家族, 即免疫球蛋白超家族、钙粘素家族、整合素家族、选择素家族和细胞表面蛋白聚糖家族, 最近还提出了唾液粘蛋白家族.

选择素家族包括 E-, P-, L-选择素 3 个成员. E-选择素可以短暂地表达于被炎症因子 (如白细胞介素-1, 肿瘤坏死因子 α (TNF α)) 活化的血管内皮上. P-选择素储藏在内皮细胞的 Weibel-Palade 体和血小板的 α 颗粒中, 受到凝血酶、组胺等刺激后的几分钟内转运到细胞表面. L-选择素组成性地表达于大多数白细胞的表面. 这 3 种选择素都参与了白细胞的起始粘附过程, 而且是协同起作用的^[1,2].

3 种选择素的基因成簇地定位于人的 1 号染色

体上, 并表现出高度的同源性. 每种选择素都是由 5 个独立的结构域组成的跨膜糖蛋白. 这 5 个结构域依次为, N 端的 C 型凝集素样结构域、表皮生长因子样结构域、由不同数目补体调节蛋白组成的重复单位结构域、跨膜区结构域和一个短的胞浆尾部. 凝集素样结构域和表皮生长因子样结构域参与了选择素与配体的识别和结合, 对选择素的功能十分重要^[1,2].

3 种选择素的天然配体几乎都是存在于糖蛋白、糖脂或蛋白聚糖的唾液酸化、岩藻糖基化或硫酸化的聚糖^[1,2]. 四糖结构 sLe^x 和 sLe^a 是已知的 3 种选择素所能识别的最小配体单位. P-选择素糖蛋白配体-1 (PSGL-1) 是白细胞表面的一种粘蛋白类型的糖蛋白, 也是研究得最充分的 3 种选择素的共同配体. 值得注意的是, 选择素的配体不仅存在于白细胞上, 而且也表达于许多类型的肿瘤细胞表面.

2 选择素参与肿瘤转移的实验证据

肿瘤转移是一个高度受控的、多因子参与的动态级联反应过程. 目前的研究认为, 血液中循环的肿瘤细胞粘附于血管内皮并外渗的过程, 类似于在炎症反应中白细胞外渗到炎症位点的迁移, 如它们使用了某些相同的粘附分子和信号转导途径. 选择

* 国家自然科学基金资助项目 (30040031), 吉林省科技厅自然科学基金资助项目 (20010553) 和东北师范大学科学基金资助项目 (111364).

** 通讯联系人.

Tel: 0431-5269317, E-mail: jiegou@nenu.edu.cn

收稿日期: 2002-09-23, 接受日期: 2002-11-26

素在血管内皮和血小板的表达,在某种意义上可能是肿瘤转移发展的前提条件.

2.1 E-选择素

大量的实验证据表明, E-选择素在肿瘤转移中主要是直接介导肿瘤细胞与血管内皮的粘附. 结肠癌在选择素的研究中是备受关注的, 因为它是第一个被证明其转移行为与其选择素配体的表达相关. 多项体外实验证明^[3], E-选择素抗体可以阻断结肠癌细胞与内皮细胞的粘附, 而且 E-选择素与肿瘤细胞表达的选择素配体 sLe^x 或 sLe^a 相互作用, 可以提高肿瘤的转移潜能. 在裸鼠体内实验中发现, 结肠癌细胞肺转移的能力与其同 E-选择素的粘附相关, 使用可溶性的 E-选择素融合蛋白能够阻断实验性的肺转移. 另外, sLe^a 或 sLe^x 的表达量与结肠癌细胞肝转移潜能相关, 使用单克隆抗体可以抑制这种转移. 在结肠癌病人的研究中发现, 血清 E-选择素浓度的提高可以反映结肠癌的演进和转移进程^[4].

与结肠癌研究一致的是, 乳腺癌细胞 sLe^x 和 sLe^a 的表达与其转移的能力也呈现出很强的相关性. 多项研究^[3,5] 观察到 E-选择素及其配体 sLe^x 和 sLe^a 在乳腺病灶的表达, 并且可溶性的 E-选择素在肝转移的乳腺癌病人中显著提高. 研究还同时指出, 邻近乳腺癌的小静脉内皮上不仅提高了 E-, P-选择素的表达, 而且这两种选择素还集中分布于肿瘤的周围. 一种解释是, E-选择素可能参与了肿瘤的新生血管生成, 因为新血管生成和内皮细胞分裂在侵袭性肿瘤的边缘是最活跃的. Aoki 等^[6] 证明了 E-选择素在血管内皮生长因子诱导的血管生成中起重要作用, 为上述解释提供了依据.

E-选择素在黑素瘤转移中的作用是令人困惑的^[3]. 在使用只在肝中表达可溶性 E-选择素转基因鼠的研究中发现, 正常鼠体内注射黑素瘤细胞导致的肺转移, 在转基因鼠体内却形成了肝转移. 这表明 E-选择素能够指导肿瘤细胞向特异位点的转移. 另一研究通过给予合成的 sLe^x 而减弱了黑素瘤细胞在小鼠肺部的停滞. 还有研究使用 E-选择素的诱导物 IL-1 α 预处理黑素瘤细胞, 导致了静脉注射的肿瘤细胞向肝大量转移. 但也有体外实验证明, 12 种人黑素瘤细胞系均未表现出 E-选择素依赖性的粘附. 并且在人原发黑素瘤的 E-选择素的免疫组化研究中还发现, 肿瘤内血管壁选择素的表达与转移率提高、发病周期缩短和总存活时间下降之间呈现负相关. 因此, 不同类型黑素瘤的转移机

制是不同的.

除上述癌细胞系外, 还有其他各种类型肿瘤的转移也受到 E-选择素的影响^[3,7]. 强表达 sLe^x 的胃癌细胞系通过 E-选择素与激活的内皮细胞相结合, sLe^x 抗体与胃癌细胞的共注射显著地抑制了肿瘤细胞在裸鼠体内的肝转移. 但也有研究表明, 胃癌细胞表面的 sLe^a 而不是 sLe^x 的高表达与其转移密切相关, 在胰腺癌、胆道癌的研究中也得到了相同的结果. 另外, E-选择素及其配体 sLe^a 和 sLe^x 的表达, 对于白血病、淋巴瘤、膀胱癌等的转移均有不同程度的作用.

2.2 P-选择素

P-选择素既表达于激活的血管内皮, 也表达于激活的血小板, 因此, P-选择素在肿瘤转移中具有双重作用. 一方面, 与 E-选择素的作用模式相似, 即直接介导肿瘤细胞与血管内皮的粘附. 有研究表明^[8], 内皮细胞 P-选择素表达的提高可以增强小细胞肺癌细胞与激活的内皮之间的粘附. 另外, P-选择素还可以结合于几种人癌细胞系和人癌衍生细胞系, 如: 结肠癌、乳腺癌、恶性黑色素瘤、成神经细胞瘤、胃癌、舌鳞片癌等^[9].

另一方面, 有实验表明^[10], P-选择素与整合素协同介导了激活的血小板与肿瘤细胞的结合. 进一步支持血小板 P-选择素在肿瘤转移中作用的证据来自于 Borsig 等^[11] 的实验, 他们发现, 血小板通过 P-选择素与某些人的癌细胞系发生粘附, 在体内抑制这种相互作用会减弱肿瘤的转移. 在 P-选择素缺陷鼠内, 血小板不能粘附于肿瘤细胞表面的粘蛋白, 皮下移植肿瘤的生长显著地减慢, 并且静脉注射肿瘤细胞只产生很少的肺转移.

人的胰腺癌细胞系 SUIT-2 具有高度转移的潜力, 研究发现其细胞表面表达 P-选择素, 刺激 P-选择素在肿瘤细胞上表达的因子与刺激 P-选择素在血小板和内皮细胞表达的因子相同, 说明肿瘤细胞对天然的调节因子可以产生应答. 另外, SUIT-2 细胞也表达选择素的配体 sLe^a, 因此在肿瘤细胞间的同型粘附应该是可以发生的^[12].

2.3 L-选择素

L-选择素的正常功能是作为淋巴细胞到达外周淋巴结的归巢受体, 因此多项研究探讨了 L-选择素在恶性白血病、淋巴瘤细胞中是否参与了向远离淋巴结转移的过程. 有研究表明^[13], 在淋巴白血病肿瘤细胞上 L-选择素的表达与淋巴结疾病的发生一般是平行的, L-选择素在鼠淋巴瘤转移至淋

巴结的过程中起促进作用。另外, 定位在外周淋巴结的人非何杰金氏淋巴瘤为 L-选择素阳性。这些发现都说明了, 正常的淋巴细胞归巢机制对于白血病和淋巴瘤的转移是重要的。

也有少量证据证明了 L-选择素在其他类型肿瘤转移中的作用。Qian 等^[13]使用了致癌的转基因鼠模型, 通过直接注射肿瘤细胞, 发现只有携带 L-选择素的肿瘤细胞才可以在外周淋巴结被检测到。更新的证据来自于 Borsig 等^[14]的研究, 他们发现内源性表达于白细胞的 L-选择素能够在体内影响肿瘤细胞的转移行为。L-选择素缺陷可减弱结肠癌的转移, 并且转移在 P-, L-选择素双缺陷鼠体内进一步减弱, 说明了 P-, L-选择素在肿瘤转移中具有协同作用。

3 选择素在肿瘤转移中的作用机制

3.1 选择素加强了血管内皮对肿瘤细胞的捕获

有确凿的证据表明, 肿瘤细胞与血小板形成微栓塞 (emboli) 是肿瘤细胞经血液转移的重要步骤。肿瘤细胞在脱离原发位点进入到血流后, 立即向微环境中释放各种细胞因子, 诱导血管内皮 E-和 P-选择素的表达, 并导致白细胞在局部位点的粘附。细胞因子的另一个重要生理效应是诱导血小板 P-选择素的表达, 使得血小板迅速地结合在肿瘤细胞周围形成微栓塞。微栓塞的形成一方面为肿瘤细胞提供了一个保护罩, 使得它们得以逃避天然杀伤细胞 (NK cell) 的细胞毒活性, 另一方面通过其外部区域血小板的 P-选择素与已经粘附于内皮白细胞的 PSGL-1 相互作用, 指导肿瘤细胞与血管内皮的粘附^[10, 14]。另外, 肿瘤细胞还可以通过其表面的选择素配体与血管内皮的 E-, P-选择素, 及粘附于炎症内皮白细胞的 L-选择素发生多种复杂的相互作用, 这一切都有利于肿瘤细胞在血管内皮的捕获。

在上述过程中, 肿瘤细胞表面选择素配体的表达是非常重要的。已有大量的研究表明, 肿瘤细胞表面粘蛋白的过量表达及糖基化的改变是肿瘤恶性化演进的一个突出特点。尤其是唾液酸化、岩藻糖化的碳水化合物 (如 sLe^{x/a}) 及粘蛋白的高表达与肿瘤的转移潜力及预后不良是密切相关的, 原因之一就是肿瘤细胞表达了大量的选择素配体, 从而使选择素配体阳性的癌细胞和宿主细胞间的相互作用产生更多的可能性^[11, 15]。

需要说明的是, 3 种选择素与肿瘤细胞的粘附

是不同的。P-, L-选择素主要是依赖于大部分粘蛋白类型的糖蛋白, 而 sLe^x 和 sLe^a 的表达与 E-选择素是密切相关的, 并且对于消化系统的肿瘤来说, sLe^a 是更重要的 E-选择素配体。因此, 选择素配体在肿瘤细胞表面的差异表达可能有助于肿瘤细胞向特定器官和组织的转移。

3.2 选择素及其配体作为信号分子促进肿瘤转移

L-选择素与配体结合或用抗体交联, 可导致 Ras 途径的激活, 诱导呼吸爆发和 O₂⁻ 的产生。嗜中性白细胞的 L-选择素被抗体交联, 可以导致 p38 促分裂原活化蛋白激酶的磷酸化, 影响嗜中性白细胞形状的改变、整合素的激活、分泌颗粒的释放等。伴随白细胞的激活, L-选择素介导的信号发挥了有利于肿瘤转移的功效。已经证明嗜中性白细胞的 L-选择素, 可以诱导 TNF- α 和 IL-8 表达的提高。最近在一个体内急性炎症模型中的研究表明, L-选择素调节白细胞滚动和粘附的事件可能有利于肿瘤细胞的外渗^[14]。

与 L-选择素不同的是, P-, E-选择素主要是通过其配体发挥作用。Mahoney 等^[16]报道, 单核细胞与 P-选择素的粘附, 可导致核转录因子 NF κ B 向细胞核的转移, 同时可使单核细胞产生 TNF- α 和其他炎症介质。NF κ B 的活化和核转运过程是 E-选择素的基因表达所需要的, 说明 P-选择素通过激活 NF κ B 促进了 E-选择素的表达。在动物模型实验中已经证实 NF κ B 参与了肿瘤转移的过程。

来自 Flugy 等^[17]的最新报道显示, T84 结肠癌细胞与纯化的 E-选择素在体外的相互作用, 可导致大量蛋白质酪氨酸残基磷酸化的提高, 而且, E-选择素还可以刺激肌动蛋白的重组, 提高胶原酶的分泌, 并且诱导细胞迁移, 提示肿瘤细胞与 E-选择素的结合起始了某个信号转导途径, 影响了肿瘤的转移。

4 选择素在抗肿瘤转移中的临床应用

4.1 作为肿瘤的血清诊断标记

卵巢癌、乳腺癌及胃肠癌病人血清中可溶性 E-选择素浓度有显著的提高。而且, 乳腺癌和结肠癌病人血清中, 可溶性 E-选择素浓度的提高可以反映转移的存在^[4, 5]。因此, 许多研究都围绕 E-选择素能否作为肿瘤和肿瘤转移的标记而展开。目前比较一致的看法是, E-选择素可以作为肿瘤标记, 特异性地应用于乳腺癌和结肠癌的转移状态。

虽然可溶性 E-选择素的水平与现行的肿瘤标

记如癌胚抗原 (CEA) 和糖链抗原 (CA15-3) 没有相关性, 但血清 E-选择素水平的提高要早于其他肿瘤标记, 因此可以作为肿瘤转移之前的重要临床检验指标. 基于这个原因, 有人建议使用 E-选择素作为新的肿瘤标记, 并与 CEA 和 CA15-3 联合使用.

另外, 测定 E-, P-选择素的水平还具有预后价值. 例如, 在鳞状细胞癌和黑素瘤中, 它有可能用于鉴定那些处在发展中的、具有高转移风险的患者亚群.

4.2 用于抗肿瘤转移的治疗

针对选择素进行肿瘤治疗的主要价值在于防止肿瘤转移的发生, 相当多的研究已在探讨, 以选择素作为靶点的抗肿瘤转移疗法的可能性.

研究方向之一是抑制选择素与其配体的相互作用. 首先是抑制选择素配体在肿瘤细胞的表达. 用粘蛋白糖基化抑制剂处理 HM7 结肠癌细胞的实验表明, 不但减弱了肿瘤细胞与 E-选择素的结合, 而且还降低了侵袭的能力. 其次是使用选择素配体的类似物. Varki 等^[18]最近证实, 肝素可以阻断 P-选择素介导的血小板与肿瘤细胞的相互作用, 注射肝素可以有效地减弱在实验性鼠模型中的肿瘤转移, 而且人 P-选择素比鼠 P-选择素对于临床安全剂量的肝素更敏感. 因此, 非抗凝血的肝素可能会在将来成为抑制肿瘤转移的新型药物. 第三是使用选择素配体的模拟物. Thurin 等^[19]使用 sLe^a 模拟肽阻断了肿瘤细胞在实验性肺转移模型中的转移.

研究方向之二是阻断引起选择素表达的途径. NF- κ B 是调控 E-选择素基因表达的重要因子, 有实验结果表明, 抗 NF κ B 的试剂具有抗转移治疗的作用. Matsumoto 等^[20]使用甲腈咪胍阻断 E-选择素在内皮的表达, 提高了那些表达高水平 sLe^{x/a} 病人的存活时间.

最后, 需要说明的是, 假设选择素的表达确实提高了肿瘤转移, 那么现行治疗恶性肿瘤的方法就可能具有某些没有想到的副作用. 尤其是使用细胞因子 (如 IL-1、TNF α) 的化学疗法可能反而提高了转移, 由于这些分子都是 E-选择素潜在的诱导物, 这或许可以部分地解释这种化学疗法的低效性.

对于肿瘤转移分子机制的研究是一个非常具有诱惑力的领域. 目前已有充分的证据证明了选择素在肿瘤转移过程中起着非常重要的作用. 但同时应该指出, 选择素的作用并不是促进肿瘤有效转移的唯

一机制, 还涉及到许多仍然未知的或已知的粘附分子, 选择素只是介导了粘附作用的起始事件. 而且, 目前所有证据的获得都是基于相关的实验数据, 而缺乏直接的体内实验证明选择素在体内与肿瘤转移的确切关系. 另外, 在许多研究中都使用了人脐静脉内皮细胞, 而不是从特定转移位点的微血管分离出来的内皮细胞, 这恰恰在评估转移细胞的位点特异性方面是非常重要的. 但无论如何, 对于监控肿瘤转移来说, 选择素及其配体已经提供了一个作为良好的预后标记的可能性. 将来, 对于选择素在肿瘤转移中作用机制的深入了解, 有可能为发展新型的癌症治疗方法提供一个有潜力的作用靶点.

参 考 文 献

- 1 Vestweber D, Blanks J E. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev*, 1999, **79** (1): 181~213
- 2 Kansas G S. Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood*, 1996, **88** (9): 3259~3287
- 3 Krause T, Turner G A. Are selectins involved in metastasis? *Clin Exp Metastasis*, 1999, **17** (3): 183~192
- 4 Alexiou D, Karayiannakis A J, Syrigos K N, *et al.* Serum levels of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal cancer patients: correlations with clinicopathological features, patient survival and tumour surgery. *Eur J Cancer*, 2001, **37** (18): 2392~2397
- 5 Hebbar M, Peyrat J P. Significance of soluble endothelial molecule E-selectin in patients with breast cancer. *Int J Biol Markers*, 2000, **15** (1): 15~21
- 6 Aoki M, Kanamori M, Yudoh K, *et al.* Effects of vascular endothelial growth factor and E-selectin on angiogenesis in the murine metastatic RCT sarcoma. *Tumour Biol*, 2001, **22** (4): 239~246
- 7 Numahata K, Satoh M, Handa K, *et al.* SialosylLe (x) expression defines invasive and metastatic properties of bladder carcinoma. *Cancer*, 2002, **94** (3): 673~685
- 8 Pottratz S T, Hall T D, Scribner W M, *et al.* P-selectin-mediated attachment of small cell lung carcinoma to endothelial cells. *Am J Physiol*, 1996, **271** (6 Pt 1): L918~923
- 9 Ma Y Q, Geng J G. Heparan sulfate-like proteoglycans mediate adhesion of human malignant melanoma A375 cells to P-selectin under flow. *J Immunol*, 2000, **165** (1): 558~565
- 10 McCarty O J, Mousa S A, Bray P F, *et al.* Immobilized platelets support human colon carcinoma cell tethering, rolling, and firm adhesion under dynamic flow conditions. *Blood*, 2000, **96** (5): 1789~1797
- 11 Borsig L, Wong R, Feramisco J, *et al.* Heparin and cancer revisited: mechanistic connections involving platelets, P-selectin, carcinoma mucins, and tumor metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (6): 3352~3357
- 12 Iwamura T, Caffrey T C, Kitamura N, *et al.* P-selectin expression in a metastatic pancreatic tumor cell line (SUIT-2). *Cancer Res*, 1997, **57** (6): 1206~1212
- 13 Qian F, Hanahan D, Weissman I L. L-selectin can facilitate metastasis to lymph nodes in a transgenic mouse model of carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (7): 3976

- ~ 3981
- 14 Borsig L, Wong R, Hynes R O, *et al.* Synergistic effects of L- and P-selectin in facilitating tumor metastasis can involve non-mucin ligands and implicate leukocytes as enhancers of metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (4): 2193~ 2198
 - 15 Kim Y J, Borsig L, Han H L, *et al.* Distinct selectin ligands on colon carcinoma mucins can mediate pathological interactions among platelets, leukocytes, and endothelium. *Am J Pathol*, 1999, **155** (2): 461~ 472
 - 16 Mahoney T S, Weyrich A S, Dixon D A, *et al.* Cell adhesion regulates gene expression at translational checkpoints in human myeloid leukocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (18): 10284~ 10289
 - 17 Flugy A M, D'Amato M, Russo D, *et al.* E-selectin modulates the malignant properties of T84 colon carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **293** (3): 1099~ 1106
 - 18 Varki N M, Varki A. Heparin inhibition of selectin-mediated interactions during the hematogenous phase of carcinoma metastasis: rationale for clinical studies in humans. *Semin Thromb Hemost*, 2002, **28** (1): 53~ 66
 - 19 Thurin M, Kieber-Emmons T. SA-Lea and tumor metastasis: the old prediction and recent findings. *Hybrid Hybridomics*, 2002, **21** (2): 111~ 116
 - 20 Matsumoto S, Imaeda Y, Umemoto S, *et al.* Cimetidine increases survival of colorectal cancer patients with high levels of sialyl Lewis X and sialyl Lewis A epitope expression on tumour cells. *Br J Cancer*, 2002, **86** (2): 161~ 167

Selectins and Tumor Metastasis*

WEI Min, ZENG Xian-Lu**

(School of Life Sciences, Northeast Normal University, Changchun 130024, China)

Abstract The selectins are a family of intercellular adhesion molecules that mediate the initial adhesion of leukocytes to the endothelia of blood vessels during inflammation. Recently, accumulating evidences indicate that the selectins play a crucial role during metastasis. The major mechanism is to mediate the initial adhesion of tumor cells to platelets and vascular endothelia. In addition, selectins and their ligands can also facilitate metastasis as signal molecules. In the future, selectins and their ligands will provide good possibilities as serum diagnostic markers for monitoring tumor and tumor metastasis. Furthermore, by inhibiting the interactions between selectins and their ligands, or by blocking the signaling pathways that lead to the expression of selectins, tumor metastasis would be prevented.

Key words selectin, metastasis, mechanism, clinical practice

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30040031), The Natural Science Foundation of Science and Technology Department of Jilin Province (20010553) and The Science Foundation of Northeast Normal University (111364).

** Corresponding author. Tel: 86-431-5269317, E-mail: jiegou@nenu.edu.cn

Received: September 23, 2002 Accepted: November 26, 2002