

膜联蛋白-1与肿瘤

朱逢佳^{1,2} 曾 苏² 曹 江^{1*}¹ 浙江大学医学院附属邵逸夫医院临床医学研究所, 浙江省生物治疗重点实验室, 杭州 310016;² 浙江大学药学院药物分析及药物代谢研究室, 杭州 310016)

摘要 膜联蛋白-1 (annexin I, ANXA1, lipocortin I)是膜联蛋白超家族中的一员,它参与细胞生长、增殖及凋亡等重要的生命过程,其表达在多种类型组织的癌前病变及肿瘤组织中与相应的正常组织中相比均有明显差异,与肿瘤细胞的恶性生长和多药耐药等表型密切相关。深入研究 ANXA1 的功能有助于完善人们对肿瘤发生发展机制的认识,并有助于肿瘤的诊断、治疗和预后。

关键词 膜联蛋白-1; 肿瘤; 凋亡; 多药耐药

膜联蛋白-1 (annexin I, ANXA1, lipocortin I)是膜联蛋白超家族中第一个被发现的成员。编码人的 ANXA1 的基因定位于染色体 19q24。这个 37 kDa 的蛋白质能与钙和磷脂结合,并在糖皮质激素(Glucocorticoid, GC)的诱导下参与抑制花生四烯酸和磷脂酶 A₂(PLA₂)的合成。从上世纪 70 年代以来的研究发现, ANXA1 与抗炎反应、细胞分化和增殖、细胞死亡信号调控、凋亡细胞吞噬清除等许多细胞生命活动有密切关系。近年来的研究还表明, ANXA1 表达失调与肿瘤的发生、发展也密切相关^[1]。本文对近年来有关 ANXA1 及其与肿瘤关系的研究新进展作一综述。

1 ANXA1的生物学特性

人膜联蛋白超家族由 13 个生物学上和结构上高度相似(40%~60%)的钙依赖的磷脂结合蛋白组成。它们具有保守的中心结构域和特异的 N 端序列。中心结构域由 4 个同源重复序列组成,每个重复序列由 70 个氨基酸残基组成,以钙离子依赖的方式可逆地和细胞膜磷脂结合。N 端序列及长度在不同的膜联蛋白中各不相同,主要起到调节膜联蛋白与配体的相互作用和调控膜联蛋白与膜结合的作用^[2]。ANXA1 的 N 端有 32~42 个氨基酸残基,其中 2~12 位氨基酸可以和 S100 家族蛋白相互作用^[1]。尽管这一区域长期以来一直被认为是单独的折叠实体,但最近的晶体结构分析表明, ANXA1 N 端也可以部分地整合进入中心结构域,在与 Ca²⁺(或膜)结合的状态下, N 端区域暴露出来,使得该区域能够发挥作用^[3]。

ANXA1 主要存在于胞浆内,但在特定的条件刺激下细胞内的 ANXA1 可以重新分布。地塞米松和

IL-6 可以诱使 ANXA1 从胞浆内转移至胞膜^[4],而在表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、氧化条件或热休克诱导下, ANXA1 还能进核^[5]。豆蔻酰佛波醇乙酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)处理 HEK 293 细胞后可以提高 ANXA1 的核内聚集约 20%~30%,并且这种核内聚集是时间依赖、由 PKC δ 介导的^[6]。因为 ANXA1 可以与 DNA 及 RNA 结合,所以 ANXA1 可能通过调节转录而参与细胞增殖分化等过程。当在 GC 或 PMA 刺激下, ANXA1 还可以被转移至细胞膜上并被分泌到细胞外^[7],与其特异性受体结合,进而调节细胞与细胞、细胞与细胞外基质之间的相互作用^[3]。

ANXA1 在体内参与一系列细胞生命活动(图 1),包括抗炎反应、细胞黏附与迁移、细胞增殖及凋亡等^[1,3]。多项动物试验表明, ANXA1 是 GC 介导的抗炎反应的重要介质,对中性粒细胞和单核细胞迁移都有强大的抑制效应。这一作用与甲酰基肽受体(formyl peptide receptor, FPR)^[8]和 lipoxin A4 (ALXR)受体的激活、L-选择素的脱落、整联蛋白 $\alpha 4\beta 1$ 与 ANXA1 的结合和 N-聚糖(carboxylated N-glycans)羧化有关。ANXA1 的功能是 GC 可诱导^[9],并反过来可以调节 GCs 的功能,包括抑制 COX-2 介导的疼痛反应、GC 的退热作用等等。

2 ANXA1与肿瘤

国内外对 ANXA1 在肿瘤组织中的表达和作用

收稿日期: 2008-02-29 接受日期: 2008-07-03

国家自然科学基金资助项目(No.30471955)

* 通讯作者。Tel: 0571-86006336, Fax: 0571-86006655, E-mail:

caoj@zju.edu.cn

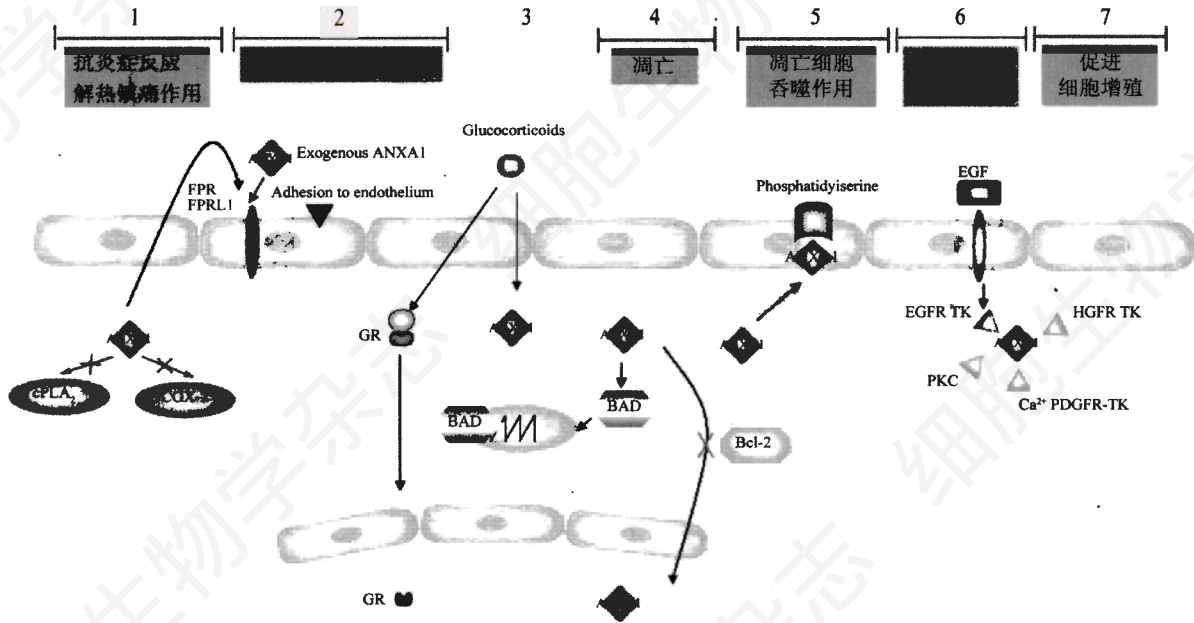


图1 ANXA1参与多种细胞生命活动^[10]

1: ANXA1通过抑制cPLA2与COX-2活性达到抗炎与解热镇痛的作用; 2: 外源ANXA1与受体FPR或FRRL1结合后可以抑制细胞黏附与迁移, 当细胞(特别是中性粒细胞)与内皮层接触时, ANXA1与明胶酶颗粒一起被释放后, 发挥与外源性ANXA1相似的作用; 3: GC通过GC受体使ANXA1表达增高; 同时, GC可以使ANXA1快速磷酸化并转移至核膜上; 4: ANXA1通过诱导BAD的去磷酸化, 使BAD转移至线粒体, 同时ANXA1进入核内(该路径可被Bcl-2阻断), 诱导细胞凋亡; 5: ANXA1在细胞表面与磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)结合, 介导凋亡细胞的吞噬清除; 6、7: ANXA1被EGFR、PKC、HGFR、PDGFR等蛋白激酶磷酸化而影响细胞的增殖。

进行了广泛的研究, 认为ANXA1不仅在表达上具有组织特异性, 而且与肿瘤的发生、发展、转移以及肿瘤多药耐药现象都有一定的关系。

2.1 ANXA1在肿瘤中的异常表达

ANXA1在不同正常组织中呈特征性表达: 在白细胞、组织细胞和呼吸道、泌尿生殖道上皮和非角化鳞状上皮等高水平表达, 而在肝组织、胰腺外分泌腺等几乎无表达。研究表明, ANXA1可能在肿瘤的发生和发展进程中起重要调节作用: 在一些类型的肿瘤细胞中ANXA1表达显著降低甚至缺失, 但在另外一些类型的肿瘤细胞中表达却增加^[10-13]。表1显示ANXA1在胰腺癌、贲门癌、大肠癌、毛细胞白血病(hairy cell leukemia)等肿瘤组织中表达增加, 而在食管鳞癌、前列腺癌、非霍奇金氏淋巴瘤等肿瘤组织中表达降低。一般情况下, ANXA1表达程度高的正常组织, 发生恶变后ANXA1的表达呈现出不同程度的降低或缺失, 而ANXA1不表达或表达极低的组织, 恶变后ANXA1的表达都呈现出增加的趋势。

在头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)中, ANXA1在癌旁正常组织中(基底层和基底上层细胞除外)呈强阳性表达, 但在

表1 临床肿瘤细胞中ANXA1的表达情况

肿瘤类型	ANXA1 表达水平
食管鳞癌	↓
前列腺癌	↓
喉鳞癌	↓
肺鳞癌	↓
鼻咽癌	↓
非霍奇金氏淋巴瘤	↓
毛细胞白血病	↑
垂体生长激素腺瘤	↑
乳腺非浸润性导管癌	↑
乳腺浸润性导管癌	↓
乳腺导管原位癌	↓
胰腺癌	↑
膀胱移行细胞癌	↑
膀胱原位癌	↓
甲状腺乳头状癌	↑
子宫内膜样腺癌	↑
卵巢浆液性囊腺癌	↑
贲门癌	↑
大肠癌	↑

所有非典型增生组织中表达明显下调。这种表达的下调与细胞分化状态、局部淋巴结转移、组织病理学分级等指标密切相关, 恶性程度越高, ANXA1表达

越低^[14],所以,ANXA1水平可以作为病理分级的一个参考。乳腺正常上皮组织、增生组织、恶性肿瘤组织的ANXA1表达也呈现出逐渐降低的趋势^[15]。乳癌转移抑制因子-1(breast cancer metastasis suppressor 1, BRMS1)转染的MDA-MB-435细胞中ANXA1和 α B-晶状体蛋白(alpha B-crystallin)表达下调,说明这两种蛋白质参与了BRMS1诱导的乳腺癌转移抑制过程^[16];液质联用分析乳腺癌转移细胞M4A4与非转移细胞NM2C5之间的蛋白质表达差异也同样证实了ANXA1表达水平的变化与肿瘤转移密切相关^[17]。

在一些肿瘤组织中ANXA1的细胞内定位与相应的正常组织相比也会发生一定的改变,如在食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)细胞中ANXA1从胞膜转移至核膜^[18];与正常口腔粘膜相比,口腔鳞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)细胞中的ANXA1由细胞质向核内转移,并可以此作为预测口腔癌患者预后情况的一个指标^[19]。

2.2 ANXA1对肿瘤细胞增殖的调节作用

ANXA1在肺癌细胞^[10]、喉癌细胞^[20]中有明显的抑制细胞生长增殖作用。ANXA1 N端第21位的Tyr残基能够被表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)磷酸化而参与相应的信号转导,抑制EGF介导的细胞增殖^[10]。最近的研究表明在低表达ANXA1的前列腺癌细胞系中重新表达ANXA1可以明显降低细胞的存活率,并抑制EGF介导的增殖效应^[21]。在鳞状上皮肿瘤细胞中,ANXA1通过与S100A11相互作用而与cPLA₂结合,并抑制cPLA₂活性,从而抑制EGFR信号途径^[22]。

除了EGFR途径,ANXA1还可以通过其他几条信号转导途径抑制细胞的增殖。ANXA1第27位的Ser残基可被蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)磷酸化而参与PKC介导的细胞内信号转导;ANXA1也可通过与那些含有SH2结构域的蛋白质形成蛋白质复合物参与细胞内信号传导^[10];在MAPK/ERK信号通路上游,ANXA1能够通过影响生长因子蛋白质复合物的形成和活性持续激活ERK1/2 MAPK信号转导途径,从而抑制细胞周期蛋白D1表达和细胞增生^[23]。

但也有一些研究表明ANXA1也可以参与促进细胞生长的一些信号转导途径。ANXA1被包括血小板衍生生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)、肝细胞生长因子受体(hepatocyte growth factor receptor, HGFR)和TRPM7通道激酶

(TRPM7 channel kinase)在内的多个信号转导激酶磷酸化后,在一定条件下有促进肿瘤细胞增殖的作用。肝细胞中ANXA1的被HGFR磷酸化后可以促进细胞增殖、趋药性和组织重构^[10]。另有文献报道,在增殖的肝细胞中,ANXA1的表达也明显上调^[25]。

2.3 ANXA1与肿瘤细胞的凋亡

最早发现的ANXA1与细胞凋亡相关的现象,是乳腺导管发生凋亡时ANXA1的表达相应地增高^[26]。ANXA1表达的改变能够影响caspase-3的活化和钙离子的释放,从而促进细胞凋亡^[10];另外,外源性的ANXA1可通过提高胞内钙离子浓度和Bcl-2/Bcl-xL相关死亡促进因子(Bcl-2/Bcl-xL-2-associated death promoter, BAD)的去磷酸化而诱导细胞凋亡^[27]。在肿瘤中,ANXA1也同样参与调节肿瘤细胞的凋亡:在甲状腺癌细胞系FRO细胞(follicular undifferentiated thyroid carcinoma cell line)中外源性的TRAIL可以诱导细胞凋亡,同时凋亡细胞ANXA1表达增高,而利用RNA干扰技术抑制ANXA1表达后,可以抑制肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)诱导的凋亡^[24];在低表达ANXA1的前列腺癌LNCaP细胞和MDA PCa 2b细胞中转染外源ANXA1后并使其表达的研究表明,ANXA1可以通过参与激活p38和JNK的信号转导而促进细胞凋亡^[21];另外,ANXA1还可通过调控PLA₂从而促进过氧化氢诱导的细胞凋亡^[10]。

最近的研究显示ANXA1在凋亡细胞中可以作为一个细胞表面标志而被吞噬细胞识别并清除^[28]。凋亡细胞的一个特征就是具有暴露在细胞质膜外的磷脂酰丝氨酸小叶。ANXA1可以作为磷脂酰丝氨酸的配体与磷脂酰丝氨酸结合,调控凋亡细胞的吞噬^[29]。在白血病细胞AML/ETO AML中,诱导细胞中ANXA1的表达可以激活细胞的凋亡及被吞噬清除^[30];而在人白血病Jurkat细胞中,利用小干扰RNA(siRNA)技术抑制ANXA1表达可导致凋亡细胞吞噬缺陷^[29]。这些研究都提示,ANXA1在凋亡细胞的吞噬清除方面起到一定的促进作用。

2.4 ANXA1与肿瘤细胞多药耐药性

肿瘤细胞的多药耐药性(multidrug resistance, MDR)是肿瘤临床化疗失败的主要原因之一,克服MDR是目前肿瘤研究的一个热点,而研究表明ANXA1在多药耐药中的也起到一定的作用,虽然这些作用似乎并不一致:一些研究表明高表达ANXA1能增加肿瘤细胞的药物敏感性,而另一些研究则认为

ANXA1 的高表达导致肿瘤细胞耐药。

对由阿霉素(adriamycin, ADR)诱导得到的多药耐药细胞 K562/ADR 与敏感细胞 K562 进行的蛋白质组学分析发现,多药耐药细胞中 ANXA1 的表达比敏感细胞中表达明显减少^[31],提示 ANXA1 表达降低可能与多药耐药现象的产生有关。由于 ANXA1 能够促进细胞的凋亡,ANXA1 表达的下降可能导致细胞对凋亡的抵抗,降低细胞凋亡水平,从而使肿瘤细胞对药物的敏感性下降,导致肿瘤细胞产生多药耐药。

但是,也有相当多的研究表明 ANXA1 表达的升高与 MDR 呈现正相关:小细胞肺癌阿霉素耐药细胞 H69/AR 与敏感细胞相比 ANXA1 过度表达,同时 MRP-MD 回复突变的 RH69/PR 细胞中 ANXA1 表达的下降^[32];转染 ANXA1 的乳腺癌 MCF-7 细胞对阿霉素、马法兰、依托泊苷的耐药性提高 2~5 倍^[33];胃癌细胞 EPG 85-257P 的典型多重抗药亚系 EPG85-257RDB 和非典型变异体 EPG85-257RNOV 细胞中,ANXA1 都过度表达^[34]。ANXA1 这种提高肿瘤细胞多药耐药性的原因是在与 P-gp 和 MRP1 的共同作用下药物外排的增加。有研究提示 ANXA1 还可能对外界压力(包括压力信号和细胞毒性试剂)的一种应激反应蛋白质,起到保护细胞的作用^[35]。另外,ANXA1 还可以聚集于损伤部位参与膜的修复,在细胞膜损坏修复中发挥重要作用^[36],因此在受到化疗药物或其他外界压力时,过表达 ANXA1 的肿瘤细胞也可能由于细胞膜损伤程度减轻而导致耐药。

3 小结

ANXA1 的异常表达在肿瘤中是一个较为普遍的分子事件,越来越多的研究结果证明它可能是一个与多种肿瘤的发生、发展(包括转移和耐药)密切相关的因子。但 ANXA1 在不同的肿瘤组织、不同恶性表型(生长、转移、耐药等)的肿瘤细胞中表达和作用不一,从而在这些肿瘤细胞增殖、凋亡及多药耐

药性方面的作用均存在差异。因此,全面深入研究 ANXA1 在不同类型肿瘤、各种情况下的表达变化规律,对于开发新的肿瘤诊断、治疗和预后评估方法都具有一定意义。

参考文献(References)

- [1] Gerke V *et al.* *Physiol Rev*, 2002, **82**: 331
- [2] Rescher U *et al.* *J Cell Sci*, 2004, **117**: 2631
- [3] Rosengarth A *et al.* *J Mol Biol*, 2003, **326**: 1317
- [4] Solito E *et al.* *Cytokine*, 1998, **10**: 514
- [5] Rhee HJ *et al.* *Eur J Biochem*, 2000, **267**: 3220
- [6] Kim YS *et al.* *Eur J Biochem*, 2003, **270**: 4089
- [7] Castro-Caldas M *et al.* *Mol Cell Biochem*, 2002, **237**: 31
- [8] Perretti M. *Trends Pharmacol Sci*, 2003, **24**: 574
- [9] Sawmynaden P *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **349**: 1351
- [10] Lim LH *et al.* *FASEB J*, 2007, **21**: 968
- [11] 薛丽燕等. *中华肿瘤杂志*, 2007, **29**: 444
- [12] 李 一等. *实用诊断与治疗杂志*, 2006, **20**: 319
- [13] 曲利娟等. *诊断病理学杂志*, 2007, **14**: 211
- [14] Garcia Pedrero JM *et al.* *Am J Pathol*, 2004, **164**: 73
- [15] Shen D *et al.* *Hum Pathol*, 2006, **37**: 1583
- [16] Cicek M *et al.* *Clin Exp Metastasis*, 2004, **21**: 149
- [17] Kreunin P *et al.* *Proteomics*, 2007, **7**: 299
- [18] Liu Y *et al.* *World J Gastroenterol*, 2003, **9**: 645
- [19] Lin CY *et al.* *J Surg Oncol*, 2008, **97**: 544
- [20] Silistino-Souza R *et al.* *Int J Cancer*, 2007, **120**: 2582
- [21] Hsiang CH *et al.* *Prostate*, 2006, **66**: 1413
- [22] Sakaguchi M *et al.* *J Biol Chem*, 2007, **282**: 35679
- [23] Parente L *et al.* *Inflamm Res*, 2004, **53**: 125
- [24] Petrella A *et al.* *Cell Death Differ*, 2005, **12**: 1358
- [25] De Coupade C *et al.* *Hepatology*, 2000, **31**: 371
- [26] McKanna JA. *Anat Rec*, 1995, **242**: 1
- [27] Solito E *et al.* *FASEB J*, 2003, **17**: 1544
- [28] Fadok VA *et al.* *J Clin Invest* 2001, **108**: 957
- [29] Arur S *et al.* *Dev Cell*, 2003, **4**: 587
- [30] Tabe Y *et al.* *Cell Death Differ*, 2007, **14**: 1443
- [31] Zhu FJ *et al.* *Acta Pharmaceut Sin*, 2007, **42**(suppl): 1
- [32] Wang Y *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, **18**: 483
- [33] Wang Y *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **314**: 565
- [34] Sinha P *et al.* *J Biochem Biophys Methods*, 1998, **37**: 105
- [35] Rhee HJ *et al.* *Eur J Biochem* 2000, **267**: 3220
- [36] McNeil AK *et al.* *J Biol Chem*, 2006, **281**: 35202

Annexin I and Tumor

Feng-Jia Zhu^{1,2}, Su Zeng², Jiang Cao^{1*}

(¹Sir Run Run Shaw Institute of Clinical Medicine, College of Medicine and Key Laboratory of Biotherapy of Zhejiang Province, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310016, China; ²Department of Drug Metabolism & Pharmaceutical Analysis, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China)

Abstract Annexin I (ANXA1, lipocortin I) is a member of the annexin superfamily, which is involved in important biological processes such as cell growth, proliferation and apoptosis. There is significant difference between the expression of ANXA1 in various types of precancerous and tumor tissues and that in their normal counterparts, and the expression level of ANXA1 is closely related to the malignant growth and multidrug resistance of tumor cell. More functional studies of ANXA1 will improve our understanding of the mechanism of tumor development and progression, and is helpful to the diagnosis, treatment and prognosis of tumor.

Key words annexin I; tumor; apoptosis; multidrug resistance

Received: February 29, 2008 Accepted: July 3, 2008

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30471955)

*Corresponding author. Tel: 86-571-86006336, Fax: 86-571-86006655, E-mail: caoj@zju.edu.cn