

细胞癌变以及癌细胞的浸润、转移与细胞膜寡糖的关系*

孙 册

(中国科学院上海生物化学研究所)

细胞膜上寡糖(与肽链或脂质结合)是细胞间和与细胞外物质识别的标记。在细胞社会中的各种活动,如粘菌细胞间的粘着,精细胞与卵细胞的结合,胚胎细胞的分化,淋巴细胞归巢,细菌或病毒感染宿主,肿瘤细胞的去接触抑制、浸润和转移,等等,细胞膜上的糖复合物(糖蛋白、蛋白聚糖和糖脂)都起着重要作用。假如癌确是细胞水平的“社会病”,那末,癌细胞的行为必定与细胞膜的变化有关。

癌细胞与其相应的正常细胞比较,寡糖的变化可归纳为三种类型:(1)寡糖的不完全合成,(2)寡糖的新合成(包括N-连接的寡糖的多支链寡糖的合成),(3)掩蔽寡糖的暴露和/或糖蛋白的粘多糖型结构的增加。癌细胞与相应的正常细胞在行为上最明显的差异是癌细胞具有正常成体细胞所没有的浸润和转移的能力。癌细胞从原发部位向邻近组织浸润和远处组织转移,是癌病理中最重要的一个方面。癌细胞的粘附性质对转移的形成是重要的,从原发肿瘤分离是癌细胞间相互粘附的减退所导致的,是转移过程的开始;另一方面,癌细胞与靶组织成分的粘附是癌细胞浸润和转移到靶组织所必需的。癌细胞的这些性质都与细胞表面分子的变化密切相关。

凝集素是具有糖专一性并与糖结合的蛋白质或糖蛋白,它的受体是各种糖复合物。由于凝集素具有识别与结合糖的专一性,目前已广泛用于研究细胞表面糖复合物的变化,以及它们在细胞中的定位。

一、癌细胞表面寡糖的变化

癌细胞的糖蛋白和糖脂中的寡糖变化虽然不尽相同,但其糖蛋白和糖脂中含岩藻糖的寡糖都有增加。另外,N-连接的糖蛋白的寡糖支

链增加,从而分子量比正常细胞的寡糖大;O-连接的糖蛋白则是粘蛋白型寡糖增多。这两种变化均使凝集素受体增加。Ogata等^[1]利用含不同支链数的寡糖与ConA亲和性的差异,证明病毒转化的BHK细胞比未转化的细胞含更多支链的N-连接的寡糖。在人的肿瘤中亦观察到以上这些变化。

1. 人淋巴细胞白血病和淋巴瘤

正常人和慢性淋巴细胞白血病患者的外周血淋巴细胞中,能与花生凝集素(PNA)结合的细胞少于2%。绝大部分的急性淋巴细胞白血病患者未成熟的淋巴细胞膜上有丰富的PNA受体。Levin等^[2]对25例儿童急性白血病患者淋巴细胞PNA受体阳性的情况作了分析,在13例PNA受体阳性细胞超过15%的病例中,有8例复发,而12例PNA受体阳性细胞数少于15%的,没有一例复发,提示血液中未成熟淋巴细胞多的患者容易复发。急性白血病患者预后可用细胞的PNA受体阳性百分率判断。

活动性滤泡增生细胞很少与ConA和PNA结合,但滤泡性淋巴瘤有64%的细胞表面有较多的ConA和PNA受体^[3,4]。

2. 人食管癌^[5,6]

比较正常的与癌变的人食管上皮细胞的凝集素受体的变化表明,正常的人食管上皮细胞不与蓖麻凝集素(RCAI)、豌豆凝集素(PSL)、稻胚凝集素(RGL)、大豆凝集素(SBA)和PNA结合,癌变后的细胞膜能与以上前三种凝集素结合,并随癌的发展(从I级到Ⅲ级)而增强。这些凝集素受体在细胞中的分布亦有改变,分化越差的癌细胞,更多的受体位于细胞核膜。但SBA和PNA的变化相反,在I级鳞癌中出现

* 本文摘要在1987年细胞膜与肿瘤学术讨论会上宣读。

SBA 和 PNA 受体, 主要分布在癌珠细胞和癌珠周围梭状细胞的质膜上, 随着癌的发展, 这两种凝集素受体消失。其机理尚不清楚。

3. 人肺癌

人小细胞肺癌的神经节苷脂和中性糖脂的含量比正常的人肺明显增加。同时, 糖脂的寡糖成分也有改变, 出现多种含岩藻糖的寡糖, 如 Fuc-G_{M1}、Fuc-GD_{1b}、Fuc-3'-L_{M1}, 都是正常人肺组织中没的^[7]。

在培养的人肺细胞癌变过程中, 糖蛋白中糖的总量逐渐增加, 特别明显的是支链末端的半乳糖和唾液酸。

4. 人乳腺癌

人乳腺癌的凝集素受体与良性病变的乳腺有明显差异。良性病变的乳腺和分化好的、中度分化的乳腺癌细胞的膜上有 ConA 受体, 而分化差的乳腺癌细胞只在细胞质中有 ConA 受体^[8]。PNA 与良性病变的乳腺细胞反应很弱, 结合部位缺少规律性, 有时呈点状分布。但 66% 的乳腺癌病例, 其癌细胞的表面有较丰富的 PNA 受体^[9]。

以上是几种不同类型的癌细胞为例, 说明细胞癌变后糖复合物的寡糖结构的改变, 和糖复合物在细胞中分布的改变。事实上, 在绝大多数的恶性肿瘤中都能观察到这些变化。如正常结肠组织不与 PNA 反应, 而 70—80% 的结肠癌标本都与 PNA 结合(国内外几个实验室的结果相似), 因此 PNA 可用于结肠癌的诊断。但有些癌细胞的寡糖的变化只是量的改变, 如人食管上皮的麦胚凝集素(WGA)受体均匀分布于细胞质膜, 当细胞癌变后, 细胞质膜上的 WGA 受体增加, 并且在细胞核膜上出现 WGA 受体。

二、癌细胞表面寡糖的改变 与癌细胞的浸润、转移

癌细胞从原发肿瘤分离, 转移到邻近或远处组织是一个复杂的、多步过程。癌细胞向邻近组织浸润是导致转移的第一步, 也是决定性

的一步。癌细胞在局部侵入相邻组织后, 进一步侵入血管壁或淋巴管壁, 形成癌栓, 然后, 癌细胞进入循环, 在逃避了宿主防御系统的监视和经受了血液流动时的机械冲击后, 又停留在靶组织的小静脉或毛细血管或淋巴结中, 未被消灭的癌细胞必须经过增殖再侵入血管壁, 进入组织, 粘附于组织实质细胞, 在那里驻留、生长, 形成新的癌巢。从原发肿瘤分离出来的癌细胞要在与原来组织不同的“异乡”生长, 开始“殖民”的转移, 必须具有通过以上所指出的各步的能力。

从原位癌转移形成为浸润癌时, 伴随基底膜的显著破坏和局部基底膜组分如 IV 型胶原和层粘蛋白的丢失。因此, 癌细胞的浸润、转移, 不仅与癌细胞表面分子的变化有关, 亦受基底膜和细胞间质的调控。本文主要讨论癌细胞表面糖的变化与癌细胞浸润、转移的关系。

1. 癌细胞的浸润行为与细胞表面糖肽的关系

Van Beek 等^[10]用粒细胞从骨髓进入血液循环过程中, 细胞表面的变化说明恶变细胞表面糖肽与细胞浸润行为的关系。细胞从骨髓进入外周血液循环的过程, 包含从网状细胞释放和血窦内皮的浸润。从骨髓分离的、正在从骨髓出去的后髓细胞(或称晚幼粒细胞)表面的糖肽, 与从髓性白血病细胞分离的糖肽(肿瘤相关的糖)相似, 而与从前髓细胞(或称早幼粒细胞)和从循环血液中的成熟的粒细胞分离的糖肽不同。正常造血细胞在从骨髓出去时, 细胞表面糖肽的变化是暂时的, 而白血病细胞表现的这一糖肽变化是永久的。造血细胞从骨髓出去时这一暂时性的变化有助于细胞穿过血窦上皮。由此说明恶性细胞表面表现的肿瘤相关的糖, 与恶性细胞的浸润行为密切相关。

2. 癌细胞的浸润、转移与唾液酸的关系

用不同的细胞和不同的方法研究, 均表明细胞膜寡糖的唾液酸基影响癌细胞的浸润、转移。

衣霉素(抑制蛋白质糖基化的抗菌素)能抑

制黑色素瘤细胞的实验性肺转移^[11]。小鼠黑色素瘤的低转移亚株(B 16-F 1)和高转移亚株(B 16-F10)与衣霉素温育12至36小时后,由静脉注射到小鼠体内。经过处理的癌细胞,不论是高转移还是低转移的癌细胞在小鼠肺部形成移植瘤的能力均受到抑制。黑色素瘤B 16与衣霉素温育,其复杂寡糖的合成有90%以上被抑制。分析经衣霉素处理的癌细胞表面糖蛋白的变化表明,唾液酸糖蛋白显著减少。衣霉素诱导B 16细胞表面糖蛋白发生变化,可能干扰癌细胞与宿主细胞间的相互作用,从而阻止癌细胞在血管内停留和生存。

小鼠黑色素瘤B 16的F₁细胞有转移能力,而它的抗-WGA变异株Wa-4转移能力很差,抗-WGA和转移潜能的降低与其稳定的细胞表面变化相关,容易转移的细胞,表面寡糖含丰富的唾液酸,并容易被WGA凝集^[12]。分析Wa-4变异株细胞的糖蛋白的寡糖表明,抗-WGA细胞的N-连接的、酸性复杂型糖肽的分子量比从亲代细胞分离的糖肽小,而N-连接的高甘露糖型糖肽和O-糖苷寡糖,均与亲代细胞糖肽的分子量相似。分析分子量有改变的糖肽的寡糖结构,唾液酸基含量减少一半,同时岩藻糖基增加^[13]。

小鼠T细胞杂交瘤是不浸润、转移的SW 5147胸腺瘤细胞与激活的T细胞融合的产物,其中有的杂交瘤细胞不浸润、不转移,有的高度浸润、转移。它们广泛转移到各器官,如肝、脾、肾、卵巢等。不浸润、不转移的杂交瘤细胞与SBA的结合比浸润、转移的细胞强2~3倍。高度浸润的杂交瘤细胞TAM 4 D 1再克隆,分析这些克隆的浸润能力和与SBA、PNA和RCA_I三种凝集素的结合能力。细胞与凝集素的结合能力与细胞的浸润潜能呈反相关关系。杂交瘤细胞经唾液酸处理后,细胞与SBA、PNA和RCA_I的结合由高浸润型转为低浸润型,提示T细胞杂交瘤细胞表面的唾液酸基与细胞的浸润和转移有关^[14]。

由小鼠T淋巴瘤L 5178Y亚株Eb自发变

异的、高度转移的变种Esb,经粘附实验,筛选到高度粘附的变异株Esb-M。这种变种失去Esb的转移潜能,Esb-M的抗原性和生物化学性质与Esb相似,但它们与SBA和长柔毛野豌豆凝集素(VVL)的结合明显不同,Esb-M与这两种凝集素结合,而Esb细胞由于细胞表面的这两种凝集素受体被唾液酸掩盖,不与这两种凝集素结合。Esb-M的返祖株,不显示这两种凝集素受体,并且恢复了转移潜能^[15],提示唾液酸基对转移是重要的。

大鼠乳腺癌13762 NF的不同克隆株,与WGA结合的糖蛋白(分子量为~80 kD, ~90 kD,和~120 kD)中分子量为120 kD的量,随细胞的转移潜能的增强而增加。但是自然肺转移肿瘤派生的克隆,与WGA结合的糖蛋白的量减少^[16]。

3. 癌转移的靶组织与癌细胞表面寡糖的关系

癌细胞表面的寡糖不仅与癌细胞的浸润、转移相关,并且影响癌细胞转移到那一个靶组织。从小鼠黑色素瘤细胞B 16选择的亚株:低转移(B 16-F 1),肺高转移(B 16-F 10),脑高转移(B 16-B 15 b),卵巢高转移(B 16-O 13)和高浸润(B 16-BL 6),这些具有倾向性靶细胞转移的不同细胞株和亲代B 16细胞的糖蛋白,与凝集素的结合各异:与WGA结合的唾液酸糖蛋白(分子量为60000和75000)主要在脑高转移的B 16-B 15 b细胞;去唾液酸后与PNA结合的、分子量为51000~56000和63000的唾液酸糖蛋白,主要在肺高转移的B 16-F 10克隆亚株;非唾液酸化的、分子量为50000的与扁豆凝集素(LCA)结合的糖蛋白,主要在卵巢高转移的B 16-O 13细胞^[17]。

4. 不同转移潜能癌细胞糖脂的差异

低转移(Eb)和高转移(Esb)的小鼠淋巴细胞株的糖脂成分明显不同^[18]。Eb细胞含有大量G_{s3}(去唾液酸G_{M2}),G_{s4}(去唾液酸G_{M1}),G_{M1β}和一种新的二唾液酸神经节苷脂G_{D1α}。高转移的Esb细胞没有G_{s3}、G_{s4}和G_{M1β},而

含有 G_{M_3} 、 G_{M_2} 、 $G_{M_{1a}}$ 。只有 Eb 细胞表面与抗 G_{s_3} 抗体作用，因此，在加 GalNAc 基到 LacCer 上的能力，Eb 细胞和 Esb 细胞明显不同，Eb 细胞为通过去唾液酸神经节苷脂四糖的途径合成一系列糖脂提供 G_{s_3} 。而 Esb 细胞有能力合成 G_{M_3} ， G_{M_3} 是合成神经节苷脂系列 G_{M_2} 、 $G_{M_{1a}}$ 、 $G_{D_{1a}}$ 和 $G_{D_{1b}}$ 的起始化合物。Eb 细胞中的新 $G_{D_{1a}}$ 的结构是： $Sia\alpha 2\rightarrow 3 Gal\beta 1\rightarrow (Sia\alpha 2\rightarrow 6)3 GalNAc\beta 1\rightarrow 4 G\beta 1\rightarrow 4 Glc\beta 1\rightarrow Cer$ ，与 Esb 细胞的 $G_{D_{1a}}$ 不同。

5. 器官专一的凝集素对癌细胞转移的可能作用

在肿瘤细胞的转移过程中，器官专一的凝集素，可能通过与循环中的肿瘤细胞的掩蔽的糖受体的相互作用，作为癌细胞的接受体 (acceptor)。

Uhlenbruck 等^[19]观察到，在体外，各种肿瘤细胞，如纤维肉瘤、子宫颈癌、肺癌、乳腺癌能自然地与肝细胞结合，形成玫瑰花。D-葡萄糖不抑制玫瑰花形成，但半乳糖氧化酶完全破坏玫瑰花形成，癌细胞经唾液酸酶处理后，增强与肝细胞的粘附。这些结果阐明了特异的糖复合物对肝细胞与肿瘤细胞的粘附和结合的重要性。

Uhlenbruck 等^[20]又调查了 1542 例癌症患者肝转移的情况，肝正常的患者 1047 例，其中肝转移的 710 例，占 67.8%；肝有疾患的 495 例，其中肝转移的 33 例，占 6.6%。某些肝脏疾病患者的血清去唾液酸糖蛋白增加，这一现象可能是肝细胞膜的识别半乳糖的凝集素功能的变化导致的，肝细胞膜的这种变化也可能影响癌细胞驻留于肝组织。

目前已有的资料不多，而且缺少有系统的研究。但从这些资料已不难看出，癌细胞表面寡糖的变化与其发展和浸润、转移密切相关，是一个重要的细胞识别问题。

摘 要

癌细胞表面的寡糖变化虽然不尽相同，但

其糖蛋白和糖脂中含岩藻糖的寡糖都有增加。癌细胞的浸润、转移行为与其表面的肿瘤相关的糖密切相关，细胞表面含丰富唾液酸的癌细胞容易转移。癌细胞表面寡糖亦影响癌细胞转移到那一个靶组织。再者，糖脂的成分亦与癌细胞的转移有关。

参 考 文 献

- [1] Ogata, S. et al., 1975, *J. Biochem.* (Tokyo), 78: 687—696.
- [2] Levin, E. et al., 1980, *Blood*, 55: 37—39.
- [3] Ree, H. J. and S-M. Hsu, 1983, *Cancer*, 51: 1631—1638.
- [4] Ree, H. J., 1983, *Cancer*, 51: 1639—1646.
- [5] 孙册等, 1986, 中华医学杂志, 66: 597—599.
- [6] 孙册等, 1988, 生物化学与生物物理学报, 20: 43—49.
- [7] Mo, Hanqing et al., 1986, *Biochem. Biophys. Acta* 878: 360—370.
- [8] Walker, R. A., 1983, *J. Pathol.*, 140: 255—265.
- [9] Hageman, L. et al., 1983, In *Lectins Vol. 3*, ed. by Bg-Hansen, T. C. and G. A. Spengler, pp. 105—118. Walter de Gruyter, Berlin, New York.
- [10] Van Beek, W. P. et al., 1984, *Blood*, 63: 170—176.
- [11] Irimura, T. et al., 1981, *Cancer Res.*, 41: 3411—3418.
- [12] Jumblatt, J. E. et al., 1980, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 95: 111—117.
- [13] Finne, J. et al 1980, *Cancer Res.*, 40: 2580—2587.
- [14] Collard, J. G. et al., In *Cell Membranes and Cancer*, ed. by Galeotti, T. et al., pp. 129—143. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, N. Y. Oxford.
- [15] Pogel, M. et al., 1983, *J. Exp. Med.*, 157: 371—376.
- [16] Steck, P. A. and G. L. Nicolson, 1983, *Exp. Cell Res.*, 147: 255—267.
- [17] Irimura, T. and G. L. Nicolson, 1984, *Cancer Res.*, 44: 791—796.
- [18] Murayama, K. et al., 1986, *Cancer Res.*, 46: 1395—1402.
- [19] Beuth J. et al., In *Lectins Vol. 5*, ed. by Bg-Hansen, T. C. and E. van Dries-

sche, pp. 229—235. Walter de Gruyter, Berlin.

[20] Uhlenbruck, G. et al., 1983, *Experientia*, 39: 1314—1315.

间隙连接通讯—生长调控—癌变三者之间的关系

林 仲 翔

(北京市肿瘤防治研究所细胞生物室)

一、前 言

多细胞动物体内有严密的细胞间通讯网络,传递基因信号,调控细胞的增殖、分化和代谢功能,维持体内平衡。细胞间通讯的形式不同,信号物质如激素、生长因子等从一种细胞产生,经过体液循环,传送到靶细胞,这是远距离的细胞间通讯。另一种是细胞连接通讯,接触的细胞之间,细胞膜形成通道结构—间隙连接,能通透小分子的信号物如cAMP等,从一个细胞的胞质内传送信号到另一个细胞的胞质,是组织或细胞群体内信号传播的主要通道。现已知间隙连接的结构单位是连接子(Connexon)。连接子在电镜下是膜上的六角形小颗粒(60—80 Å直径);许多连接子密集的小区即是间隙连接^[1]。其生化成分主要是分子量28 kD的膜蛋白质。连接子由6个哑铃形、贯穿细胞膜的蛋白质亚单位组装形成,中心是直径约15 Å的亲水性通道。相邻的细胞膜对应面上的一对连接子构成间隙连接通道,只能通过1000—1600 D以下的小分子。实验证明,连接通道可允许带不同电荷的分子向不同的方向流动,这种流动是依赖于分子的化学浓度级差的扩散方式^[2]。通道的启、闭或有效直径的大小,受到细胞质局部条件如Ca²⁺浓度、pH等变动和细胞生理条件变动的影响而变化,反映在电镜下连接子颗粒数量、排列形式、密度及间隙连接分布数量的改变,也反映在细胞对示踪染料通透性和电偶合的强弱程度上。间隙连接通讯受到细胞内调控系统的调

节,弄清这些调节机制是了解间隙连接通讯在细胞功能活动中作用的关键。因此,连接通道组装和调节的分子机制成为有关基础研究的核心问题。研究间隙连接通讯常用的方法是电偶合技术、细胞代谢协同作用试验及荧光染料示踪方法^[2]。其中的FRAP方法^[3]可以定量地检测连接通讯功能。新近发展的划痕标记染料示踪技术^[4],操作简易,适用于检查各种培养细胞的间隙连接通讯功能。

间隙连接在胚胎发育的早期就存在,它们对胚胎组织的生长控制、形态发生及分化起重要作用^[5]。在成体组织和体外培养的细胞,它们与细胞增殖调控密切相关。许多肿瘤细胞缺少或无间隙连接通讯^[4]。正常细胞转化后的明显标志是丧失接触性抑制,间隙连接减少或消失。许多促癌剂(Tumor Promoter)有抑制连接通讯的作用^[6]。间隙连接通讯与生长调控及癌变的关系已成为重要的研究领域,近年来有更大的进展。我国关于间隙连接与胚胎发育的研究,引起国内外重视^[5,7],但与生长调控和癌变关系的研究刚开始。本文介绍这一领域的概况和新进展,试图引起人们重视,以利有关研究的开展。

二、间隙连接通讯与细胞生长调控

1. 间隙连接传送生长调节信号分子

细胞增殖的调控是在外来信号如激素、生长因子等刺激下,通过细胞内自身调控系统的作用进行的。这些自身调控的信号是通过许多离子和小分子如碱基、氨基酸、核苷酸、高能