

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2011.01.026

基质金属蛋白酶与肿瘤微环境的调节

宿晓东 石俊强

(兖州矿业集团总医院, 山东 邹城 272000; 济宁医学院基础医学与法医学院, 山东 济宁 272067)

关键词 基质金属蛋白酶; 肿瘤; 微环境

中图分类号: R73 文献标志码: A 文章编号: 1000-9760(2011)02-071-04

肿瘤是危害人类健康最严重的疾病之一, 它由瘤细胞和间质构成。间质主要由纤维结缔组织成分和血管组成, 它构成了瘤细胞赖以生存的微环境, 对瘤细胞起支持、提供营养成分和带走代谢产物或拮抗等作用。目前瘤细胞与肿瘤微环境之间

相互作用的分子机制是肿瘤研究中面临的挑战之一。越来越多的研究表明细胞外蛋白水解酶如基质金属蛋白酶类(MMPs)在肿瘤微环境的调节过程中发挥着十分重要的作用。本文将对 MMPs 调节肿瘤微环境的研究进展作一综述。

- [3] Korn T, Bettelli E, Gao W, et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells[J]. Nature, 2007, 448(7152): 484-487.
- [4] Nurieva R, Yang XO, Martinez G, et al. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells[J]. Nature, 2007, 448(7152): 480-483.
- [5] Zhou L, Ivanov II, Spolski R, et al. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways[J]. Nat Immunol, 2007, 8(9): 967-974.
- [6] Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. TH-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity[J]. Nature Immunology, 2007, 8(4): 345-350.
- [7] Langrish C L, Chen Y, Blumenschein WM, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation[J]. Exp Med, 2005, 201(2): 233-240.
- [8] Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, et al. Transforming growth factor- β induces development of the TH17 lineage[J]. Nature, 2006, 441(7090): 231-234.
- [9] Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function[J]. Nature, 2007, 450(22): 566-569.
- [10] Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, et al. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells[J]. Cell, 2006, 126(6): 1121-1133.
- [11] Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, et al. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR α and ROR γ [J]. Immunity, 2008, 28(1): 29-39.
- [12] Ziegler SF. Foxp3: of mice and men[J]. Annu Rev Immunol, 2006, 24: 209-226.
- [13] Zheng Y, Josefowicz SZ, Kas A, et al. Genome-wide analysis of Foxp3 target genes in developing and mature regulatory T cells[J]. Nature, 2007, 445: 936-940.
- [14] McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, et al. TGF- β and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology[J]. Nat Immunol, 2007, 8(12): 1390-1397.
- [15] Ephrem A, Chamaat S, Miquel C, et al. Expansion of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells by intravenous immunoglobulin: a critical factor in controlling experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Blood, 2008, 111(2): 715-722.
- [16] Zhang B, Rong G, Wei H, et al. The prevalence of Th17 cells in patients with gastric cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 374(3): 533-537.
- [17] Miyahara Y, Odunsi K, Chen W, et al. Generation and regulation of human CD4⁺ IL-17-producing T cells in ovarian cancer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(40): 15505-15510.
- [18] Wang Weiwei. The Expression of Th17 Cells and Treg Cells in Primary Hepatic Carcinoma and the Potential Relationship with Development of Carcinoma[D]. Second Military Medical University, 2010.
- [19] Peng Sufang. The Detection and Significance of Transcription Factors and Cytokines of Th17/Treg Cells in the Gastric Patients[D]. Jiangsu University, 2009.
- [20] Somasundaram R, Jacob L, Swoboda R, et al. Inhibition of cytolytic T lymphocyte proliferation by autologous CD4⁺/CD25⁺ regulatory T cells in a colorectal carcinoma patient is mediated by transforming growth factor- β [J]. Cancer Res, 2002, 62(18): 5267-5272.

(收稿日期 2011-01-15)

1 MMPs 家族特点及其活性的调节

MMPs 是一类锌依赖性肽链内切酶家族,一般在正常组织中表达量很少,而在肿瘤组织中通常高表达,主要由相关内皮细胞、淋巴细胞、巨噬细胞和肿瘤细胞等产生。MMPs 分子中有三个结构域,分别为前肽结构域、催化域和含有血红素蛋白的结构域。起初产生的 MMPs 因其前肽链中的半胱氨酸残基与催化域中锌离子相互作用而不具有活性,只有通过蛋白水解作用去除前肽链或化学修饰半胱氨酸残基破坏这种相互作用, MMPs 才具有活性。

复杂的肿瘤微环境存在许多级联反应,它们调节着 MMPs 功能的发挥。从酶原转变为有蛋白水解活性的酶是 MMPs 调节中的主要环节。体内存在许多蛋白水解酶调节 MMPs 的活性,如纤溶酶、弗林蛋白酶和其它活性 MMPs 等。MMPs 与其特异性拮抗剂-金属蛋白组织抑制因子(TIMPs)的相互作用是调节 MMPs 活性的另一重要因素,这些拮抗剂与 MMPs 以非共价键形式形成 1:1 复合体,影响 MMPs 蛋白水解活性的发挥。氧自由基(ROS)也能影响 MMPs 的功能。肿瘤部位浸润的中性粒细胞和巨噬细胞在炎症应答过程中产生大量的 ROS,这些 ROS 能氧化 MMPs 前肽链中的半胱氨酸和修饰 MMPs 催化域的氨基酸而激活 MMPs,不过这些过程需要其它 MMP 的协助。区室作用或定域作用也影响着 MMPs 功能的发挥。许多 MMPs 可通过增加浓度与细胞表面受体结合或固定到细胞外基质(ECM)特定位点而发挥作用,还能抑制与 MMPs 内源性拮抗剂的结合,如转化癌细胞表面高浓度的 MMP-14 对于癌细胞的转移是十分重要的^[1]。

2 MMPs 对肿瘤微环境的调节作用

2.1 MMPs 对生长信号的影响

MMPs 可能参与破坏肿瘤微环境中生长信号与生长抑制信号的平衡,因为它们潜在地影响多个重要生长因子的功能和生物利用率。转化生长因子- β (TGF- β)能促进细胞分化,具有抑制肿瘤细胞增殖及维护组织稳态的作用。然而,当肿瘤发展到恶性增殖阶段,编码 TGF- β 受体系统的基因发生变异,导致肿瘤细胞对 TGF- β 没有反应性。此外, TGF- β 对间质细胞有多种作用,例如逃避免疫监视作用,而肿瘤细胞可利用 TGF- β 这些作用,把 TGF- β 变为一个肿瘤生长促进因子。TGF- β 通常

由炎症细胞产生,产生后前体没有活性,在 MMPs 或弗林蛋白酶蛋白水解作用下转化为有活性的形式,如 MMP-9 可通过区室作用与细胞表面的 CD44 链对接水解非活性 TGF- β 而激活 TGF- β 。另一方面, MMP-2、MMP-9 及 MMP-14 还能间接地调节 TGF- β 的生物活性,它们可剪切 ECM 组分中 TGF- β 相连蛋白 1(LTBP-1),从而使 TGF- β 从 ECM 相连部位释放出来^[2]。肿瘤细胞对 TGF- β 没有反应性,也意味着 MMPs 对 TGF- β 蛋白水解激活作用能选择性促进肿瘤的生长。

表皮生长因子受体(EGFR)的配体是潜在的细胞增殖促进剂和组织稳态的重要调节器。乳腺癌和其它恶性肿瘤可经常看到这个系统中的多个基因发生变异。最近的研究发现解整合素样金属蛋白酶(ADAM)和 MMPs 有调节 EGFR 通路的功能。例如, ADAM-10 可促进可溶性 EGF 的释放,而 ADAM-17 是其它 EGFR 配体前体如表皮调节素等的转化酶。激活 EGFR 可上调 MMP-9 的表达,结果引起 E-钙粘蛋白的降解。而 E-钙粘蛋白是许多细胞功能的潜在控制元件,如调控细胞-细胞黏附和细胞分化。卵巢癌组织标本中 MMP-9 和 EGFR 共同存在的区域可以发现 E-钙粘蛋白的表达明显减少^[3]。因此, MMPs 或 ADAM 对 E-钙粘蛋白的降解可促进瘤细胞的增殖。有趣的是 ADAM-10 介导 E-钙粘蛋白的降解可引起 β -连环蛋白由胞液易位到胞核,最终促进瘤细胞增殖^[4]。

2.2 MMPs 对肿瘤微环境中 Fas 配体的调节

MMPs 可剪切细胞凋亡通路中促进凋亡的配体和受体从而抑制它们诱导瘤细胞发生凋亡。人的胰腺癌标本中可检出 MMP-7 的大量表达。应用阿霉素进行化疗时,因 MMP-7 能剪切与瘤细胞表面的 Fas 受体相配对的配体,导致癌细胞不发生凋亡而降低化疗的效果。由此, MMP-7 可作为一个可预测性化疗耐受指标^[5]。相似地, ADAM-10 通过降解 Fas 配体而抑制细胞毒性淋巴细胞诱导的细胞凋亡。基因敲除 MMP-7 并能正常表达 Fas 配体的小鼠能够显著减小结扎的胰管发生变形^[6]。另外,联合应用 MMP 抑制剂和 IL-15 已成功克服小细胞性肿瘤细胞对 NK 细胞的耐受^[7]。因此, MMPs 能够阻碍受体传导或淋巴细胞介导的细胞凋亡而促进肿瘤增殖。

2.3 MMPs 对脉管系统的影响

MMPs 在肿瘤血管形成和淋巴管形成的过程中也发挥着重要作用。参与血管形成的 MMPs 主

要有 MMP-2、MMP-9 和 MMP-14, MMP-1 和 MMP-7 也与血管形成有关^[8]。血管内皮生长因子(VEGF)是最潜在的肿瘤血管形成诱导剂。MMP-9 能够提高瘤细胞对 VEGF 的生物利用率。例如,胰腺癌中 MMP-9 可提高 VEGFR2 受体对 VEGF 的生物利用率从而启动血管形成。在小鼠成胶质细胞瘤模型中,低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)能诱导 CD45⁺骨髓细胞聚集,而 CD45⁺骨髓细胞能表达 MMP-9,因而能提高 VEGF 的生物利用率,促进新生血管的形成。此外,MMP-3、MMP-7、MMP-9 和 MMP-16 可直接剪切基质相连的 VEGF,释放 VEGF,改变 VEGF 的生物利用率。肿瘤细胞移植于 MMP-9 缺失小鼠经辐射没有血管生成的组织中,发现这些组织中没有血管形成。然而,当把 CD11b⁺骨髓细胞再移植于 MMP-9 缺失小鼠后,这些组织中就有血管形成^[9]。因此,MMP-9 在肿瘤血管形成的过程中是必不可少的,可作为一个重要的治疗靶点。

MMPs 对淋巴管形成有很广的影响。MMPs 特别是 MMP-9 对 VEGF 生物利用率的调节,也影响淋巴管形成,促进癌细胞向淋巴管内转移和散布。最直接的证据来源于 Bruyere 等进行的实验,该实验应用三维培养系统把小鼠胸导管片段嵌入胶原凝胶里,可以发现凝胶内有淋巴毛细管的形成^[10]。抑制 MMP-2、MMP-9 和 MMP-14 的表达能同时抑制血管形成和淋巴管形成,并且减少癌细胞淋巴性转移。

2.4 MMPs 对 ECM 的降解和重塑作用

目前,MMPs 在癌细胞侵袭和转移中的作用日益受重视,大量的研究也充分证明了这一点。MMPs 可以降解和重塑 ECM,为癌细胞的侵袭和转移铺平道路。最近的研究发现 MMP-14 通过细胞外周的蛋白水解作用重塑 ECM,引起癌细胞侵袭和转移。MMP-1、MMP-2、MMP-13 也参与 ECM 重塑过程。多数恶性细胞系在培养时分泌 MMPs 的能力较正常细胞强;B16 黑色素瘤细胞各亚系的转移能力与 MMPs 的活性相关。应用异种移植乳腺癌细胞模型进行实验,发现 MMP-1 可通过剪切蛋白水解激活受体-1(PAR-1)而促进癌细胞的侵袭和转移^[11]。瘤细胞和间质细胞表达的 MMPs 在骨质溶解和癌细胞转移至骨骼组织过程中发挥着十分重要的作用。前列腺癌鳞齿动物模型表明破骨细胞表达的 MMP-7 能促进骨质溶解^[12]。MMP-7 的作用靶点是肿瘤坏死因子家族成员 RANKL,它能剪切 RANKL 前体生成活性

RANKL,而 RANKL 有促进破骨细胞的分化,所以 MMP-7 间接促进了破骨细胞的激活。应用 RNAi 技术基因沉默人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 的 MMPs 基因,也得到类似的结果^[13]。进一步的研究发现 MMP-1 和 ADAMTS-1 可以蛋白水解 EGF 类似配体,激活 RANKL 通路^[14]。

3 结论与展望

综上所述,MMPs 在肿瘤微环境的调节过程中发挥着十分重要的作用,而这种调节作用促进了瘤细胞的增殖、侵袭和转移。因此,MMPs 较早地作为治疗癌症的靶点。起初人们基于 MMPs 能够促进血管形成和癌细胞的侵袭和转移,把小分子金属蛋白酶抑制剂(MPIs)应用于临床试验,但没有取得成功。后来的研究发现以前应用的 MPIs 是一种特异性抑制 MMPs 催化域所起蛋白水解活性的抑制剂,而一些 MPIs 分子中含有血红素蛋白的结构域在肿瘤增殖、侵袭和转移过程中同样发挥着重要作用。另外,不同类型的间质细胞产生各自特异的 MMP 发挥着各自特异的作用。因此,将来应开发能直接抑制单一 MMP 特定活性位点的抑制剂或抗体,并且这些抑制剂或抗体不交叉抑制或影响其它 MMPs。

参考文献:

- [1] Sabeh F, Shimizu-Hirota R, Weiss SJ. Protease-dependent versus-independent cancer cell invasion programs; three-dimensional amoeboid movement revisited[J]. Cell Biol, 2009,185(1):11-9.
- [2] Tatti O, Vehvilainen P. J. MT1-MMP releases latent TGF- β 1 from endothelial cell extracellular matrix via proteolytic processing of LTBP-1[J]. Exp Cell Res, 2008, 314(13): 2501-14.
- [3] Cowden Dahl KD, Symowicz J. Matrix metalloproteinase 9 is a mediator of epidermal growth factor-dependent e-cadherin loss in ovarian carcinoma cells[J]. Cancer Res, 2008, 68(12): 4606-13.
- [4] Maretzky T, Reiss K. ADAM10 mediates E-cadherin shedding and regulates epithelial cell-cell adhesion, migration, and beta-catenin translocation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(26): 9182-7.
- [5] Liu H, Zhang T. Predictive value of MMP-7 expression for response to chemotherapy and survival in patients with non-small cell lung cancer[J]. Cancer Sci, 2008, 99(11): 2185-92.
- [6] Nakanuma Y, Zen Y. Tumorigenesis and phenotypic characteristics of mucin-producing bile duct tumors; an immunohistochemical approach[J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2010, 17(3): 211-22.

(下转第 75 页)

是指当心房率 $<135\text{bpm}$ 时,连续 2 个以上 P 波不能下传到心室者称为高度房室传导阻滞,如 4:1、5:1 传导等(或含 3:1 传导)。其房室传导组织阻滞区的有效不应期比之二度 II 型房室传导阻滞更为延长,甚至发展到绝大多数 P 波受阻,仅偶尔有 P 波下传到心室,则称为几乎完全性房室传导阻滞。当心室率骤然显著减慢或心室暂停收缩时,心音与脉搏减慢或完全消失,同时因脑缺血而引起昏厥、抽搐等症状,形成所谓阿-斯综合征,若停搏时间超过 3~5 min 者多造成死亡。其首选长期治疗是安置永久性心脏起搏器。2008ACC/AHA/HRS 心律失常植入装置指南^[3]明确提出对于成人获得性房室传导阻滞患者的起搏器植入指征为:任何解剖部位的三度和高度房室传导阻滞出现心动过缓相关症状(包括心力衰竭);或虽无症状,但清醒状态下记录到停搏 $\geq 3\text{s}$,或任何 $<40\text{bpm}$ 的逸搏心律。该版本美国指南列举了 Danish、PASE、CTOPP、MOST、UK-PACE 等 5 项比较心房与心室起搏模式的随机对照研究,指出不论是窦房结功能障碍还是房室传导阻滞,虽然心房起搏(或双腔起搏)与单纯心室起搏相比降低了房颤和卒中的发生率,但仅轻度改善窦房结功能障碍患者的生活质量。该指南中认为 VVI 起搏模式仍占很重要的地位,而并未像欧洲版指南那样极力推荐以心房起搏为基础的双腔起搏、最小化右心室起搏以及频率适应性起搏。当然本例患者选择 VVI 起搏模式也是考虑到其经济条件有限。

主动脉瓣狭窄和高度(或三度)房室传导阻滞在临床上均较常见,二者均易导致阿-斯发作,一般药物治疗无效。但二者合并同时出现在临床上极为少见,本例患者即为这种情况,甚至在心脏起搏器植入的手术过程中发生 2 次阿-斯发作。在拟定治疗方案的过程中,我们考虑到了以下几点:1)与心脏外科专家沟通,虽然有行心脏瓣膜置换手术

指征,但患者入院时无明显心绞痛、心衰症状,且心脏超声提示 EF=58%,而动态心电图提示心室停搏极为明显(最长 9.5s),考虑在其阿-斯发作的原因中,心室停搏所占的比例更大一些;2)在置入永久性心脏起搏器之前心脏瓣膜置换的手术风险极大,术中、术后的心率难以维持;3)患者自身的经济条件难以负担双瓣膜置换术。综合考虑以上因素,我们选择首先解决心室搏动的问题,即行永久性心脏起搏器植入术,起搏器术后择期再行心脏瓣膜置换术。本例患者起搏器术后虽然未再发作晕厥,可适当下地活动,但我们还是告诫患者家属,该主动脉瓣重度狭窄尚未处理,仍有头晕、晕厥、心绞痛、心肌梗死、心力衰竭和猝死风险。并建议出院 3 个月后至心外科就诊考虑行心脏瓣膜置换术。

参考文献:

- [1] Lindblom D, Lindblom U, Qvist J, et al. Long-term relative survival rates after heart valve replacement[J]. J Am Coll Cardiol, 1990, 15: 566-573.
- [2] Otto CM, Burwash IG, Legget ME, et al. Prospective study of asymptomatic valvular aortic stenosis: clinical, echocardiographic, and exercise predictors of outcome[J]. Circulation, 1997, 95: 2262-2270.
- [3] Epstein AE, DiMarco JP, Ellenbogen KA, et al. ACC/AHA/HRS 2008 guidelines for device-based therapy of cardiac rhythm abnormalities: a report of the american college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines: developed in collaboration with the american association for thoracic surgery and society of thoracic surgeons [J]. Circulation, 2008, 117(21): e350-408.

(收稿日期 2010-12-03)

(上接第 73 页)

- [7] Le Maux Chansac B. Potentiation of NK cell-mediated cytotoxicity in human lung adenocarcinoma: role of NK-G2D-dependent pathway[J]. Int Immunol, 2008, 20(7): 801-10.
- [8] Littlepage LE, Sternlicht MD. Matrix metalloproteinases contribute distinct roles in neuroendocrine prostate carcinogenesis, metastasis, and angiogenesis progression[J]. Cancer Res, 2010, 15; 70(6): 2224-34.
- [9] Ahn GO, Brown JM. Matrix metalloproteinase-9 is required for tumor vasculogenesis but not for angiogenesis: Role of bone marrow-derived myelomonocytic cells[J]. Cancer Cell, 2008, 13(3): 193-205.
- [10] Bruyere F, Melen-Lamalle L. Modeling ymphangiogenesis in a

three-dimensional culture system[J]. Nat Methods, 2008, 5(5): 431-37.

- [11] Boire A, Covic L. PAR1 is a matrix metalloprotease-1 receptor that promotes invasion and tumorigenesis of breast cancer cells[J]. Cell, 2005, 120(3): 303-13.
- [12] Lynch CC, Hikosaka A. MMP-7 promotes prostate cancer-induced osteolysis via the solubilization of RANKL[J]. Cancer Cell, 2005, 7(5): 485-496.
- [13] Lu X, Wang Q. ADAMTS1 and MMP1 proteolytically engage EGF-like ligands in an osteolytic signaling cascade for bone metastasis[J]. Genes Dev, 2009, 23(16): 1882-94.

(收稿日期 2010-12-25)