

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2010.03.021

尤因肉瘤生物治疗基础研究的现状

王洪伟 综述;李长青,周 跃 审阅(第三军医大学附属新桥医院 骨科,重庆 400037)

[摘要] 生物治疗对于预后不良的尤因肉瘤(Ewing's sarcoma,又称尤文肉瘤)患者具有更好的临床意义,其类型包括基因治疗、免疫治疗、抗血管生成靶向治疗等。尤因肉瘤的基因治疗主要体现在反义核酸技术的应用;免疫治疗主要体现在抗体疗法、T细胞疗法、DC疗法和肿瘤疫苗治疗等方面;抗血管生成治疗主要体现在抑制肿瘤血管的生成,从而抑制肿瘤的生长和迁移。随着研究的深入,发现端粒长度的变化、微粒体谷胱甘肽转移酶1(microsomal glutathione S-transferase 1, MGST1)表达水平、肿瘤转移和多药耐药相关基因的表达以及乳头状瘤病毒结合因子等都有可能成为尤因肉瘤预后的判断指标。

[关键词] 尤因肉瘤;生物治疗;生物标志

[中图分类号] R738.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2010)03-0349-05

Biotherapy of Ewing's sarcoma: Current status of basic research

WANG Hong-wei, LI Chang-qing, ZHOU Yue (Department of Orthopaedics, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

[Abstract] Biotherapy is especially beneficial for Ewing's sarcoma with bad prognosis. The therapy includes gene therapy, immunotherapy, anti-angiogenesis therapy, etc. Gene therapy mainly refers to the application of antisense nucleic acid technique; immunotherapy refers to antibody therapy, T cell therapy, dendritic cell therapy, and tumor vaccine, etc.; and anti-angiogenesis therapy refers to inhibition of tumor angiogenesis, thus suppressing tumor growth and metastasis. With the deeper understanding of Ewing's sarcoma, changes in the telomere length, microsomal glutathione S-transferase 1 (MGST1) expression, the expression of tumor metastasis and multi-drug resistance genes, and papillomavirus binding factor might serve as novel predictors for the prognosis of Ewing's sarcoma.

[Key words] Ewing's sarcoma; biotherapy; basic research

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(3): 349-353]

尤因肉瘤(Ewing's sarcoma,又称尤文肉瘤)是一种起源于骨髓的原发恶性骨肿瘤,其好发于儿童和年轻人^[1],男性多于女性,发病率在青少年仅次于骨肉瘤,属全身性疾病。尤因肉瘤属于尤因肉瘤家族肿瘤(Ewing's sarcoma family tumor, ESFT),其还包括成神经外胚层细胞瘤、神经上皮瘤、Askin肿瘤等,它们在分子生物学上的共同特征是染色体易位t(11, 22)(q24, 12)。20世纪80年代中叶, Bosenberg和Oldham等初步建立了现代肿瘤生物治疗的理论和技术,成为继肿瘤手术治疗、放射治疗和化学治疗三大常规治疗之后的第4种肿瘤治疗模式。尤因肉瘤的生物治疗也随着细胞因子技术、过继免疫疗法、单克隆抗体及其偶联物技术、肿瘤疫苗等技术的发展得到了日新月异的改善。Esiashvili等^[2]通过1973—2004年NCI的肿瘤监视和流行病学的统计指出,在所有尤因肉瘤患者中出现远处转移的达26%~28%,无转移患者的5年生存率、10

年生存率以及有远外转移患者的5年生存率、10年生存率都有很大提高。生物治疗对于预后不良的尤因肉瘤患者具有更好的临床意义。

1 尤因肉瘤的基因治疗

尤因肉瘤的基因治疗主要体现在反义核酸技术在肿瘤治疗中的应用。反义核酸是指能与特定mRNA精确互补、特异阻断其翻译的RNA或DNA分子。利用反义核酸特异地封闭某些基因表达,使之低表达或不表达,这种技术即为反义核酸技术。Martins等^[3]通过体外实验证实,应用17-AAG或HSP90 siRNA能够抑制细胞尤其是Imatinib或

[作者简介] 王洪伟(1984-),男,天津市人,临床医学七年制在读,研究方向为骨外科

[通信作者] 周跃(ZHOU Yue, corresponding author), E-mail: hapyzhou@vip.163.com

ADW742 不敏感的细胞 HSP90 的表达。动物实验^[3]证实,单独应用 HSP90 抑制剂或与 IGF1R 抑制剂合用,均能明显抑制肿瘤生长和伴侣蛋白的表达,由此 Martins 等^[3]指出,HSP90 是尤因肉瘤治疗的潜在靶点。Beauchamp 等^[4]指出,尤因肉瘤家族肿瘤细胞系高表达 GLI1 蛋白,通过药物抑制 GLI1 蛋白的功能能够减少尤因肉瘤家族肿瘤细胞的增生和其在软琼脂上集落的形成。Anumanthan 等^[5]通过实验证实,丝氨酸-苏氨酸激酶受体相关蛋白能够调节致瘤 EWS 蛋白的功能,并且其不依赖 TGF- β 。Benini 等^[6]实验得出,TC-71 尤文细胞中增强表达的 IGFBP-3 能够增强外源蛋白的产生和迁移,减少基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase, MMP-9) 和 VEGF 的产生和活性,进而使尤因肉瘤细胞的转移能力消失。

胰岛素样生长因子 I 受体 (IGF-IR) 是胰岛素样生长因子的初级受体,用以调节细胞生长的一种表面分子。体外试验^[7-8]证实,应用 EWS-FLI1 基因产物的表达来诱导鼠的成纤维细胞是需要 IGF-IR 辅助的。在体实验^[9]证实,阻断 IGF-IR 能够减少鼠 EWS 异种移植肿瘤的生长。IGF-IR 作为肿瘤治疗的靶向分子主要从以下方向发挥作用:受体靶向 (干扰其与配体的结合、减少 IGF-IR 的基因表达、阻断 IGF-IR 的活性) 和降低 IGF-I 的生物利用度 (热量限制、生长抑素类似物的应用、促生长激素释放激素、生长激素拮抗物)。目前已经有至少 7 种 IGF-IR 的拮抗药物正在被研究或是将要被研究用于实体肿瘤的治疗,包括尤因肉瘤^[10]。Douglas 等^[11]通过实验指出,肿瘤基因 BMI-1 在尤因肉瘤家族肿瘤致病机制上起关键作用,并指出其致瘤作用部分与其调控细胞与细胞、细胞与基质黏附的路径有关。

2 尤因肉瘤的免疫治疗

肿瘤免疫治疗方面的进展主要表现在抗体疗法、T 细胞疗法、DC 细胞疗法、肿瘤疫苗治疗等方面。尽管抗各种癌症的抗体种类在逐渐增加,但还需进一步探讨用于抗体治疗的新靶点、开发新抗体及扩大抗体应用的范围^[12]。

2.1 单克隆抗体免疫疗法

目前单克隆抗体免疫疗法的研究非常活跃,已成为肿瘤治疗的热点。现有的研究表明,肿瘤分子靶向治疗具有较好的安全性和一定的有效性,尤其以针对血管内皮生长因子 (VEGF) 靶点的药物。针对 VEGF/VEGFR 信号转导途径研发的抗肿瘤药物,主要包括中和 VEGF/VEGFR 的抗体 (如贝

伐单抗、IMC-1121B)、可溶的 VEG-FR 类蛋白 (VEGF-Trap) 和酪氨酸激酶抑制剂 (索拉非尼,舒尼替尼) 等^[13]。EWS-FLI1 与 RNA 螺旋酶 A 的结合对于其致肿瘤效应非常重要,Erkizan 等^[14]通过药物 YK-4-279 识别并结合 EWS-FLI1,阻断其与 RNA 螺旋酶 A 的结合,导致尤因肉瘤家族肿瘤细胞的凋亡和抑制同位异种移植的尤因肉瘤家族肿瘤。TNF 相关性凋亡诱导受体 (TRAIL) 具有很强的抗肿瘤活性,但对大多数正常细胞和组织毒性很小。Picarda 等^[15]通过向裸鼠肌内注射人 A673 细胞制备动物尤因肉瘤模型,给与 TRAIL 后能够明显减少原代肿瘤细胞的生长,能成倍增加动物的存活时间。

2.2 T 细胞免疫治疗

基于肿瘤反应性 T 细胞或者自然杀伤细胞的免疫治疗能够提高进展期尤因肉瘤的治疗效果,而细胞免疫识别又关键性地依赖于人类白细胞抗原的表达。Berghuis 等^[16]通过实验证实了大多数尤因肉瘤,尤其是进展期尤因肉瘤能够表达出全部或部分两种人类白细胞抗原,这对于进展期尤因肉瘤的细胞免疫治疗有很大意义。Verhoeven 等^[17]通过实验证实,NK 细胞是通过尤因肉瘤细胞表面 NK 细胞受体 NKG2D 和 DNAM-1 依赖的信号通路识别并溶解尤因肉瘤细胞,细胞因子激活的 NK 细胞能够更加有效地识别尤因肉瘤细胞,诱导或阻断尤因肉瘤细胞 HLA1 并不影响尤因肉瘤细胞的溶解。

2.3 树突状细胞免疫治疗

以肿瘤特异性抗原或肿瘤相关抗原多肽负载 DC 的肿瘤疫苗较早被应用于临床,在临床 I、II 期试验中已取得了满意的效果^[18]。曲华毅等^[19,20]通过实验指出,重组腺病毒 Ad EWS-FLI1 构建成功并能在 PBMC 中稳定有效地表达,Ad EWS-FLI1 转染的 DC 可高效地诱发机体 T 细胞的特异性抗肿瘤免疫应答作用。Guo 等^[21]对比测定树突状细胞-尤因肉瘤细胞 (A673) 共培养体系和用细胞溶解液或是 EWS-FLI1 基因等抗原负载得到的树突状细胞这两者刺激细胞毒性 T 淋巴细胞的能力,证实共培养体系能够刺激更多的细胞毒性 T 淋巴细胞。通过 SCID 小鼠在体实验证实共培养体系能够较其他抗原刺激得到的树突状细胞能够更加明显地抑制皮下肿瘤的生长。

2.4 肿瘤疫苗的治疗

肿瘤疫苗一直是肿瘤特异性主动免疫治疗的主要研究方向,其原理是通过激活患者自身免疫系统,利用肿瘤细胞或肿瘤抗原物质诱导机体的特异性细胞免疫和体液免疫反应,增强机体的抗癌能力,阻止

肿瘤的生长、扩散和复发,以达到清除或控制肿瘤的目的。95%的尤因肉瘤有 EWS 与 FLI1 基因的重排,重排后形成新的肿瘤特异性融合基因 EWS-FLI1,产生融合蛋白,这为尤因肉瘤的基因治疗提供了依据。郭义等^[22]应用 EWS-FLI1 基因修饰的 Adh-GM-CSF 诱生的 DC 体外致敏自体 T 淋巴细胞,生成特异 CTL,对尤因肉瘤 A673 有一定的杀伤作用,对肿瘤的杀伤率在 29% 左右。

3 尤因肉瘤的抗血管生成靶向治疗

肿瘤的生长和迁移依赖于大量新生血管的生成,在此过程中,VEGF/VEGFR 途径被看成是正常或病理状态下血管生成的重要部分,起到诱导和促进血管生成的关键作用^[23]。Ferrara 等^[24]通过实验指出,尤因肉瘤细胞系表达与正常成骨细胞相当的 VEGF 水平,由此认为,降低 VEGF 的表达和抗 VEGF 药物都可对尤因肉瘤的治疗有益。Leavey 等^[25]发现 EWS-FLI1 融合蛋白能够间接上调 VEGF 的表达。

Lipskar 等^[26]用雷帕霉素处理尤因肉瘤细胞植入的无胸腺老鼠 5 周,指出低剂量的雷帕霉素能够抑制肿瘤生长及血管生成,其并不抑制 p70s6k 和 Akt 的磷酸化,但是环氧酶 2 的水平却受到抑制。因此指出,抑制环氧酶 2 能够介导雷帕霉素对尤因肉瘤的抗血管生成作用。Dalal 等^[27]通过实验发现,给予单剂量的微管结合药物 OXi4503/CA1P 能够使尤因肉瘤家族肿瘤的血管生成完全停止 24 h,并且发生广泛出血性坏死达 48 h;在处理前 1 h 给予多柔比星能够明显延长 OXi4503/CA1P 对尤因肉瘤抑制的作用。Potikyan 等^[28]通过实验指出,增强尤因肉瘤细胞系中血栓收缩蛋白的表达能够抑制瘤细胞生成的速度,并且明显减少肿瘤内微血管的数量。

4 判断尤因肉瘤预后的指标

4.1 影响尤因肉瘤预后的主要因素

影响预后的指标主要包括尤因肉瘤是否远处转移、年龄大小、肿瘤体积是否超过 200 cm³、是否存在骨盆或脊柱的多中心病变、对化疗的敏感性等。Miser 等^[29]指出确诊时出现远处转移者五年无病生存率只有 20% 左右,而没有转移病灶者为 69%。确诊时年龄越大预后越差。在 INT0091 的研究中,Grier 等^[30]指出,10 岁以下患者的无病生存率为 70%,10~17 岁患者无病生存率为 60%,18 岁或大于 18 岁患者的无病生存率为 44% ($P=0.001$)。肿瘤的

体积越大,生存率越低。在无转移患者中,肿瘤最大直径大于 8 cm 的比小于 8 cm 的无病生存率要减少 20%,分别为 75% 和 55%。在 CESS-86 研究中,Paulussen 等^[31]指出肿瘤体积等于或大于 200 cm³ 的患者复发率成倍增加。Bacci 等^[32]通过临床分析 359 个患者认为,原发于骨盆与骶骨的尤因肉瘤患者的 5 年无病生存率只有 43.2%,而生长在四肢末端的尤因肉瘤患者为 60.6%。在 CESS-86 研究中,Paulussen 等^[31]指出对新辅助化疗的组织反应性较差的患者会有近两倍的复发几率。

4.2 判断尤因肉瘤预后的分子或蛋白等标志物

Fuchs 等^[33]搜集 31 例尤因肉瘤患者的组织标本进行抗体标记,得出阳性周期蛋白 D1 和 VEGF 分别占到了所有肿瘤标本的 42% 和 55%。更重要的是,VEGF 被看成是预示尤因肉瘤患者预后较差的独立指标。Avigad 等^[34]通过检测 32 个尤因肉瘤患者原代肿瘤和外周血中的端粒的长度,75% 的肿瘤发生端粒长度的变化,端粒长度越短预后越不好 ($P=0.015$);65% 的患者染色体不稳定与短端粒具有显著相关性 ($P=0.0094$),具有短端粒的患者肿瘤复发危险度是端粒无变化或长端粒患者的 5.3 倍。因此指出,可以将染色体端粒长度的变化作为尤因肉瘤预后的标志。Scotlandi 等^[35]通过测定尤因肉瘤患者冰冻切片组织的相关指标,指出微粒体谷胱甘肽转移酶 1 (microsomal glutathione S-transferase 1, MGST1) 表达水平越高,患者的预后越差。Schaefer 等^[36]利用 Affymetrix 基因芯片分析临床 27 例样本指出,包括 PDGF、TP53、NOTCH 和 WNT1 在内的 29 个信号通路过度表达,并且发现化疗引起原发肿瘤的消退与调节血管形成、凋亡、泛素-蛋白酶体通路、PI3 激酶通路、P53 通路相关基因的表达有关。因此可以通过测定肿瘤转移和化疗药物耐药相关的基因表达产物来判断尤因肉瘤的预后。Yabe 等^[37]以抗乳头瘤状病毒抗体检测 20 例尤因肉瘤患者标本的乳头瘤状病毒结合因子和患者的生存率,指出乳头瘤状病毒结合因子的过度表达预示着尤因肉瘤预后较差。

5 结语

目前,针对尤因肉瘤的生物治疗虽然有很多新的治疗策略,但是并没有证实有明确的益处。尤因肉瘤生物治疗目前仍然还没有找到确切分子靶标及明确有效的治疗方案,因此需要国际化多中心研究机构进行广泛而有计划的全球合作,并且进一步寻找判断尤因肉瘤预后的更加准确的指标。

[参 考 文 献]

- [1] van den Berg H, Kroon HM, Slaar A, Hogendoorn P. Incidence of biopsy-proven bone tumors in children: A report based on the Dutch pathology registration "PALGA" [J]. J Pediatr Orthop, 2008, 28(1): 29-35.
- [2] Esiashvili N, Goodman M, Marcus RB Jr. Changes in incidence and survival of Ewing's sarcoma patients over the past 3 decades: Surveillance epidemiology and end results data [J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2008, 30(6): 425-430.
- [3] Martins AS, Ordoñez JL, García-Sánchez A, Herrero D, Sevillano V, Osuna D, et al. A pivotal role for heat shock protein 90 in Ewing's sarcoma resistance to anti-insulin-like growth factor 1 receptor treatment: *In vitro* and *in vivo* study [J]. Cancer Res, 2008, 68(15): 6260-6270.
- [4] Beauchamp E, Bulut G, Abaan O, Chen K, Merchant A, Matsui W, et al. GLI1 is a direct transcriptional target of EWS-FLI1 oncoprotein [J]. J Biol Chem, 2009, 284(14): 9074-9082.
- [5] Anumanthan G, Halder SK, Friedman DB, Datta PK. Oncogenic serine-threonine kinase receptor-associated protein modulates the function of Ewing's sarcoma protein through a novel mechanism [J]. Cancer Res, 2006, 66(22): 10824-10832.
- [6] Benini S, Zuntini M, Manara MC, Cohen P, Nicoletti G, Nanni P, et al. Insulin-like growth factor binding protein 3 as an anticancer molecule in Ewing's sarcoma [J]. Int J Cancer, 2006, 119(5): 1039-1046.
- [7] Toretsky JA, Kalebic T, Blakesley V, LeRoith D, Helman LJ. The insulin-like growth factor-I receptor is required for EWS/FLI-1 transformation of fibroblasts [J]. J Biol Chem, 1997, 272(49): 30822-30827.
- [8] Le Roith D, Helman L. The new kid on the block(ade) of the IGF-1 receptor [J]. Cancer Cell, 2004, 5(3): 201-202.
- [9] Manara MC, Landuzzi L, Nanni P, Nicoletti G, Zambelli D, Lollini PL, et al. Preclinical *in vivo* study of new insulin-like growth factor- I receptor—specific inhibitor in Ewing's sarcoma [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(4): 1322-1330.
- [10] Yakar S, Leroith D, Brodt P. The role of the growth hormone/insulin-like growth factor axis in tumor growth and progression: Lessons from animal models [J]. Cytokine/Growth Factor Rev, 2005, 16(4-5): 407-420.
- [11] Douglas D, Hsu JH, Hung L, Cooper A, Abdueva D, van Doorninck J, et al. BMI-1 promotes Ewing's sarcoma tumorigenicity independent of CDKN2A repression [J]. Cancer Res, 2008, 68(16): 6507-6515.
- [12] 台桂香. 肿瘤免疫治疗的研究进展和发展趋势 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(5): 427-430.
- [13] 陈 川, 俞德超, 滕理送. 以 VEGF/VEGFR 为靶点的抗肿瘤药物的研究进展 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 14(3): 291-295.
- [14] Erkizan HV, Kong Y, Merchant M, Schlottmann S, Barber-Rotenberg JS, Yuan L, et al. A small molecule blocking oncogenic protein EWS-FLI1 interaction with RNA helicase A inhibits growth of Ewing's sarcoma [J]. Nat Med, 2009, 15(7): 750-756.
- [15] Picardaa G, Lamoureuxa F, Geffroyb L, Delepinec P, Laudd K, Burchille S, et al. Preclinical evidence of using TRAIL in Ewing's sarcoma therapy [J]. Bone, 2009, 44: S211(abstract).
- [16] Berghuis D, de Hooge AS, Santos SJ, Horst D, Wiertz EJ, van Eggermond MC, et al. Reduced human leukocyte antigen expression in advanced-stage Ewing's sarcoma: Implications for immune recognition [J]. J Pathol, 2009, 218(2): 222-231.
- [17] Verhoeven DH, de Hooge AS, Mooiman EC, Santos SJ, ten Dam MM, Gelderblom H, et al. NK cells recognize and lyse Ewing's sarcoma cells through NKG2D and DNAM-1 receptor dependent pathways [J]. Mol Immunol, 2008, 45(15): 3917-3925.
- [18] Old LJ. Cancer vaccines: An overview [J]. Cancer Immun, 2008, 8(1): 1.
- [19] 曲华毅, 郭 卫, 李 健, 何湘君. 介导尤因内瘤融合基因的重组腺病毒的构建及其在外周血单个核细胞(PBMC)中的表达 [J]. 中国骨肿瘤骨病, 2004, 3(3): 161-166.
- [20] 曲华毅, 郭 卫, 何湘君. 尤因内瘤融合基因修饰的重组腺病毒的构建及其转染的树突细胞体外抗尤因内瘤免疫应答 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2006, 38(6): 623-627.
- [21] Guo W, Guo Y, Tang S, Qu H, Zhao H. Dendritic cell-Ewing's sarcoma cell hybrids enhance antitumor immunity [J]. Clin Orthop Relat Res, 2008, 466(9): 2176-2183.
- [22] 郭 义, 郭 卫, 汤小东, 高占成, 何湘君. 尤因内瘤基因免疫治疗的研究 [J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21(7): 848-851.
- [23] Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine [J]. Nature, 2005, 438(7070): 932-936.
- [24] Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors [J]. Nat Med, 2003, 9(6): 669-676.
- [25] Leavey PJ, Collier AB. Ewing's sarcoma: Prognostic criteria, outcomes and future treatment [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2008, 8(4): 617-624.
- [26] Lipskar AM, Glick RD, Huang J, Fisher JC, DeVoti J, Pica R, et al. Cyclooxygenase 2 mediates the antiangiogenic effect of rapamycin in Ewing's sarcoma [J]. J Pediatr Surg, 2009, 44(6): 1139-1147.
- [27] Dalal S, Burchill SA. Preclinical evaluation of vascular-disrupting agents in Ewing's sarcoma family of tumours [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(4): 713-722.
- [28] Potikyan G, Savene RO, Gaulden JM, France KA, Zhou Z, Kleinerman ES, et al. EWS/FLI1 regulates tumor angiogenesis in Ewing's sarcoma via suppression of thrombospondins [J]. Cancer Res, 2007, 67(14): 6675-6684.
- [29] Miser JS, Goldsby RE, Chen Z, Krailo MD, Tarbell NJ, Link MP, et al. Treatment of metastatic Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor of bone: Evaluation of increasing the dose intensity of chemotherapy—a report from the children's oncology group [J]. Pediatr Blood Cancer, 2007, 49(7): 894-900.
- [30] Grier HE, Krailo MD, Tarbell NJ, Link MP, Fryer CJ, Pritchard DJ, et al. Addition of ifosfamide and etoposide to standard chemotherapy for Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor of bone [J]. N Engl J Med, 2003, 348(8): 694-701.
- [31] Paulussen M, Ahrens S, Dunst J, Winkelmann W, Exner GU,

- Kotz R, et al. Localized Ewing tumor of bone: Final results of the cooperative Ewing's sarcoma study CESS 86 [J]. J Clin Oncol, 2001, 19(6), 1818-1829.
- [32] Bacci G, Ferrari S, Bertoni F, Rimondini S, Longhi A, Bacchini P, et al. Prognostic factors in nonmetastatic Ewing's sarcoma of bone treated with adjuvant chemotherapy: Analysis of 359 patients at the Istituto Ortopedico Rizzoli [J]. J Clin Oncol, 2000, 18(1): 4-11.
- [33] Fuchs B, Inwards CY, Janknecht R. Vascular endothelial growth factor expression is up-regulated by EWS-ETS oncoproteins and Sp1 and may represent an independent predictor of survival in Ewing's sarcoma [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(4): 1344-1353.
- [34] Avigad S, Naumov I, Ohali A, Jeison M, Berco GH, Mardoukh J, et al. Short telomeres: A novel potential predictor of relapse in Ewing's sarcoma [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(19): 5777-5783.
- [35] Scotlandi K, Remondini D, Castellani G, Manara MC, Nardi F, Cantiani L, et al. Overcoming resistance to conventional drugs in Ewing's sarcoma and identification of molecular predictors of outcome [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(13): 2209-2216.
- [36] Schaefer KL, Eisenacher M, Braun Y, Brachwitz K, Wai DH, Dirksen U, et al. Microarray analysis of Ewing's sarcoma family of tumours reveals characteristic gene expression signatures associated with metastasis and resistance to chemotherapy [J]. Eur J Cancer, 2008, 44(5): 699-709.
- [37] Yabe H, Tsukahara T, Kawaguchi S, Wada T, Sato N, Morioka H, et al. Overexpression of papillomavirus binding factor in Ewing's sarcoma family of tumors conferring poor prognosis [J]. Oncol Rep, 2008, 19(1): 129-134.
- [收稿日期] 2009 - 11 - 11 [修回日期] 2010 - 02 - 28
[本文编辑] 韩 丹

· 科技动态 ·

AIM2 炎性复合体在抗弗朗西斯菌天然免疫中发挥关键作用

AIM2(absent in melanoma 2)是 2009 年刚发现的能够识别细胞胞质中双链 DNA 的模式识别受体。AIM2 被激活后可以通过募集 ASC 和 caspase-1 形成炎性复合体(inflammasome),进而活化 caspase-1, 剪切白细胞介素 1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)和白细胞介素 18(interleukin 18, IL-18)。弗朗西斯菌(*Francisella tularensis*)是一种革兰阴性菌,能够感染人、小鼠和兔子等哺乳动物。细胞感染弗朗西斯菌后能引起 IL-1 β 和一型干扰素(type I interferon)的分泌以及细胞的死亡。

美国托马斯杰弗逊大学的 Emad S Alnemri 教授和他的研究小组研究发现,小鼠巨噬细胞中的 AIM2 分子可以通过识别弗朗西斯菌的 DNA 来活化 inflammasome 和 caspase-1,进而引起促炎性细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 的剪切释放以及细胞的死亡。这一工作证明了 AIM2 炎性复合体在抗弗朗西斯菌的天然免疫中发挥关键作用。作者首先通过基因陷阱技术构建了 AIM2 基因缺陷的小鼠,并从蛋白水平上验证了基因敲除效果,并通过转染外源性 DNA 后检测 AIM2 缺陷小鼠巨噬细胞 caspase-1 活化程度和培养上清中乳酸脱氢酶水平,证实 AIM2 在细胞识别外源性 DNA 活化 inflammasome 过程中是必须的。接着用弗朗西斯菌分别感染 AIM2 缺陷、ASC 缺陷、NLRP3 缺陷和 MEFV 缺陷的 4 种小鼠或正常小鼠的巨噬细胞,检测 caspase-1 活化、LDH 释放和细胞形态学变化,证明弗朗西斯菌活化 inflammasome 需要依赖于 AIM2 和 ASC,而不依赖于 NLRP3 和 MEFV。用氯化钾、肌动蛋白抑制剂细胞松弛素 D、溶酶体酸化抑制剂巴弗洛霉素和氯化铵等处理弗朗西斯菌感染的缺陷小鼠巨噬细胞,证明 AIM2 识别弗朗西斯菌活化 inflammasome 要依赖于 ASC 的聚集、细胞的内吞、溶酶体的酸化以及钾离子的外流。之后又通过对 IRF3 缺陷或者干扰素受体缺陷两种小鼠巨噬细胞的实验,证明干扰素能促进弗朗西斯菌活化 AIM2 炎性复合体的能力。该研究进一步用荧光共聚焦显微镜观察到 AIM2 可以和外源性 DNA 或者弗朗西斯菌的 DNA 形成共定位,证明弗朗西斯菌通过 AIM2 聚集活化 inflammasome。最后,通过小鼠体内实验,观察到 AIM2 缺陷导致小鼠感染弗朗西斯菌后死亡率上升,而且组织中细菌数增加、血清中 IL-18 下降,进一步证明了 AIM2 在弗朗西斯菌免疫反应中的作用。

总之,该研究表明,小鼠巨噬细胞中 AIM2 分子通过识别弗朗西斯菌 DNA 活化 inflammasome,释放 IL-1 β 和 IL-18,并诱导细胞死亡来控制细菌感染。该分子在天然免疫中发挥的作用正越来越得到广泛的关注,说明天然免疫中外源性胞质 DNA 受体的研究作为这一领域的一个热点有着重要的生物学意义。

[金晶 摘译,韩超峰 审阅. Fernandes-Alnemri T, Yu JW, Juliana C, Solorzano L, Kang S, Wu J, et al. Nat Immunol, 2010, 11(5),385-393.]