

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.01.020

Netrin-1 及其受体与肿瘤的关系

Netrin-1 and its receptors in tumor development

吕丹 综述;张君,张毓 审阅(北京大学医学部基础医学院免疫学系,北京 100191)

[摘要] 神经轴突导向分子 Netrin-1 通过与其受体结直肠癌缺陷基因(deleted in colorectal cancer, *DCC*)或 *UNC5* 同源物(*UNC-5 Homolog*, *UNC5A-C*, *UNC5H1-3*)家族成员结合传递信号,参与神经轴突的生长、定向迁移和神经元发育等生理功能。Netrin-1 受体在没有配体结合的情况下,诱导细胞凋亡,故被归为“依赖性受体”(dependence receptor, DR)家族。Netrin-1 受体在结直肠癌等多种肿瘤中下调或不表达,导致其表达下调的可能机制包括杂合性缺失、表观遗传学改变和转录调控等;过表达 Netrin-1 受体可抑制肿瘤细胞的增殖和迁移。Netrin-1 及其受体家族是近年来鉴定出来的肿瘤参与分子,很可能是未来肿瘤治疗的新靶点。

[关键词] Netrin-1; 依赖性受体;肿瘤;凋亡

[中图分类号] R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)01-092-05

Netrin-1 作为 Netrin 家族中最受关注的轴突导向因子之一,其在神经系统发育过程中,对轴突导向以及细胞迁移等发挥重要作用;其通过识别不同的受体,发挥着吸引或排斥双重导向的功能^[1]。近年研究^[2]发现,Netrin-1 受体在人类多种恶性肿瘤中处于低表达,其表达水平与恶性肿瘤的发生、转移以及恶性程度密切相关。导致它们表达下调的原因包括杂合性缺失、表观遗传学改变等。目前,Netrin-1 及其受体在肿瘤发生中的作用及作为可能的肿瘤治疗新靶点受到越来越多的关注。本文就 Netrin-1 及其受体与肿瘤的关系作一综述。

1 Netrin-1 及其受体的分子结构与功能

Netrin 是在 20 年前通过对 *UNC-6* 缺失的线虫突变体进行基因学分析而鉴定出来的,Netrin-1 是 *UNC-6* 在脊髓动物中的同源物^[3],作为一分泌型蛋白,结构上与层黏连蛋白(laminin)类似,通过与免疫球蛋白样跨膜受体结合,依赖受体传递信号(图 1)^[3]。Netrin-1 受体根据结构又可以分为两大类,一类是结直肠癌缺失基因(deleted in colorectal cancer, *DCC*)^[4]及其类似物 neogenin;另一类则是 *UNC5* 同源物(*UNC-5 homolog*, *UNC5H*),包括 *UNC5A*,*UNC5B*,*UNC5C*(也可以称为 *UNC5H1-3*),此外还有新近发现的 Netrin-1 受体,唐氏综合症细胞黏附分子(down syndrome cell adhesion molecule, *DSCAM*)^[5]以及腺苷 A2b 受体(adenosine receptor A2b, A2b)^[6](图 1)。Netrin-1 及其受体在神经系统高表达,其最初的研究主要集中于神经系统,发现其参与神经轴突的定向迁移、生长,参与神经元的发育分化等。近年来的研究^[7-8]表明,Netrin-1 及其受

体组织分布很广泛,Netrin 信号还在神经系统外发挥多种作用:如调控血管形成、细胞运动以及细胞凋亡等,无论在上皮细胞还是在内皮细胞都参与了广泛的细胞过程。Netrin 信号可调节内皮细胞形态形成,包括诱导血管内皮平滑肌细胞的骨架重新聚集,此外还可调控肺、胰腺、肠道上皮细胞的黏附及迁移^[9]。正是由于 Netrin 及其受体的这些在多种组织器官的重要功能,提示我们需要从更广泛的角度来认识这类分子,并联系其在肿瘤发生过程中可能起到的作用。

2 Netrin-1 以及受体的“依赖性”模型

“依赖性”受体^[10](dependence receptors, DRs)由多达 12 种膜受体组成的大家族,这类家族的划分并不是根据其结构的相似性,而是根据其功能的特点相似性。DRs 最显著的功能特点就是能够激发两种信号通路:在配体存在的情况下,受体激活经典通路,有助于细胞的存活,迁移和分化;而在配体缺失的情况下,受体并不是处于失活状态,而是启动下游

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30600734);教育部留学回国启动基金资助项目(No. 20071108)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30600734), and the Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars from State Education Ministry(No. 20071108)

[作者简介] 吕丹(1983 -),男,内蒙古自治区赤峰市人,博士生,主要从事肿瘤生物学和肿瘤免疫的研究工作。E-mail: jason1983@bjmu.edu.cn

[通信作者] 张君(ZHANG Jun, corresponding author), E-mail: junzhang@bjmu.edu.cn

[网络出版] 2011-01-25; <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110125.1120.021.html>

的促凋亡通路。因此,表达依赖性受体细胞的存活,主要依赖于配体是否存在。目前已经确定为“依赖性”受体家族成员的有: DCC^[11]、UNC5Hs、Neogenin^[12]、p75NTR^[13]、RET^[14]、TrkC^[15]、Ptc^[16]、EphA4^[17]、ALK^[18]、MET^[19]以及某些整合素分子^[20]。值得注意的是,不同受体成员的配体也并不完全相同,例如 DCC 和 UNC5H 的配体均为 Netrin-1 和 Netrin-4,而 Ptc 的配体则为 Shh,等等。有意思的是,上述这些受体分子都在神经系统发育以及肿瘤的发生中发挥着重要的作用。

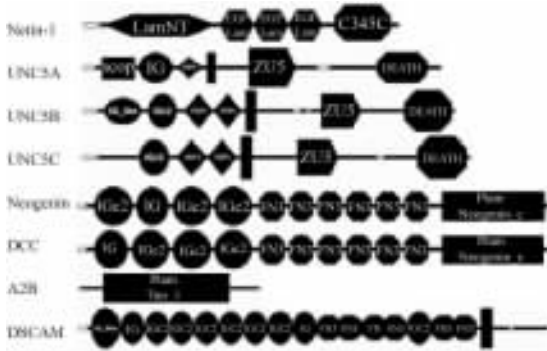


图 1 Netrin-1 及其受体的结构示意图

目前,正是由于这些“依赖性”受体所具有的促细胞凋亡的功能,这类受体被认为是肿瘤抑制性蛋白。例如,当 DCC 没有与配体 Netrin-1 结合时,它能诱导经典的 caspase 依赖性上皮细胞凋亡^[21]。进一步的研究发现,无论 DCC 还是 UNC5Hs 所诱导的凋亡(图 2),都是需要 caspase 对受体分子的剪切以暴露出其促凋亡功能域而发挥作用;有所不同的是,DCC 能够直接活化 caspase-9,而 UNC5Hs 所诱导的 caspase 依赖性凋亡是通过其它方式:例如与 DAPK^[22-23]或者 MAGE-D1^[24]这些凋亡调控分子的结合,通过 MAGE-D1 与 TAK1-TAB1-XIAP 复合体

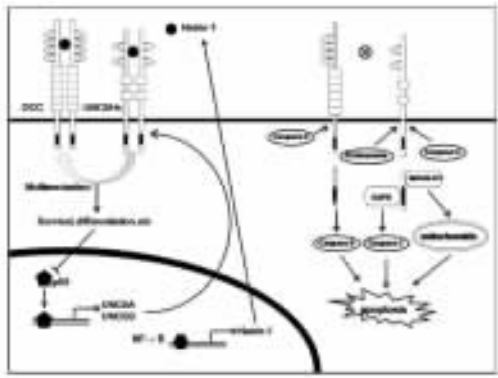


图 2 Netrin-1 受体介导的凋亡信号

的结合,进一步活化 p38 蛋白从而发挥其促进细胞凋亡的功能。当配体存在时,Netrin-1 受体就形成了多聚体结构,其自身的 caspase 切割位点由于被覆盖而丧失其促凋亡的作用。正是由于“依赖性”受体家族的这种功能特点,科学家们对肿瘤细胞中这类家族成员的表达水平以及随着表达水平变化而引起的临床表现发生了浓厚的兴趣。

3 Netrin-1 及其受体在肿瘤中的表达

越来越多的临床证据支持 Netrin-1 受体成员作为抑癌基因而存在。最早^[25]发现的是基因定位于 18q21 位置上的 DCC 分子。因 DCC 在结直肠癌中发生高频缺失,而被广泛地认为是抑癌基因,其名字也由此命名而来。然而,后来发现^[26],其在结直肠癌的突变率很低,同时 DCC 基因缺陷的小鼠模型对肿瘤的形成影响并不明显,所以对 DCC 分子究竟是否是肿瘤抑制分子还存在争议。随后又有科研人员发现^[2],在结直肠癌中 UNC5A、UNC5B、UNC5C 的表达也有下调的趋势,分别为 48%、27% 以及 74%~77%。通过细胞学实验,如克隆形成实验以及迁移实验,研究人员发现,当肿瘤细胞过表达 UNC5H 时,其增殖和迁移的水平都会有不同程度的下调,并且这种抑制肿瘤增殖和迁移的功能可以通过 Netrin-1 的存在而抵消。进一步^[27]利用 RNA 干扰技术,将下调表达 Netrin-1 的肿瘤细胞注射到裸鼠体内,同时引入对照组和过表达 DCC 组,发现当 Netrin-1 表达下调或者 DCC 表达上调时,肿瘤无论大小还是侵袭转移的水平,相对于对照组来说都降低。这些证据从不同的角度提示了 Netrin-1 及其受体在肿瘤发生的过程中的重要作用。最近的研究^[27-28]发现,7%左右的结直肠癌患者 Netrin-1 高表达,47%的非小细胞性肺癌患者中,Netrin-1 表达也显著提高,而在胃肠组织中 Netrin-1 的诱导性高表达可以减少细胞凋亡甚至发生癌变。除了在结直肠癌中 UNC5Hs 表达下调,还发现在卵巢癌(88%)、乳腺癌(49%)、宫颈癌(48%)、胃癌(68%)、肺癌(74%)以及肾癌(81%)中 UNC5Hs 都有下调的趋势,同时 Netrin-1 的其他受体,例如 Neogenin^[29]在肠癌中也存在下调的现象,而 DCC^[30]在胰腺癌中的表达也类似于结肠癌中的低或不表达。

4 Netrin-1 及其受体在肿瘤中表达的调控机制

如上所述,已经发现 Netrin-1 及其受体在多种肿瘤中表达异常,那么其可能的机制是什么呢?目前,对于 Netrin-1 及其受体表达调控的研究主要集

中于以下三个方面:

4.1 杂合性缺失以及纯合性缺失

杂合性丢失(loss of heterozygosity, LOH): 导致某一特殊基因正常的两个成对等位基因出现不同程度的基因组变化, 常反映丧失该基因的一个等位基因的部分或全部基因组序列。而当一个等位基因明显异常或缺失时, 其表达水平明显下调, 不再发挥其生物学功能; 而当两对等位基因同时缺失时, 就称为纯合性缺失。DCC 在人体组织器官中广泛表达, 而在 90% 以上的结直肠癌中发生同源染色体上的杂合或纯合性缺失。UNC5Hs 在结直肠癌中发生 LOH 的概率分别为 52% (UNC5A)、26% (UNC5B)、39% (UNC5C)^[2]。而 Neogenin 在结肠癌中发生 LOH 的概率为 49%^[29]。

4.2 表观遗传学调控

为了进一步寻找 Netrin-1 受体下调的主要机制, 研究人员分别对 DCC 和 UNC5Hs 等 Netrin-1 受体分子的启动子区进行分析, 发现它们的启动子区都存在着明显的 CpG 岛结构, 提示表观遗传学机制对 Netrin-1 受体表达调控的可能性。然而, 早期的研究^[2]仅发现组蛋白的乙酰化可以诱导肿瘤细胞系重新表达 UNC5Hs 蛋白; 随后的研究人员发现, DCC 启动子在 56% 的胃癌标本中存在明显的甲基化^[31], 而 UNC5C 在 79% 的结肠癌患者中的下调表达是由甲基化引起的^[32]。对于其它的 Netrin-1 受体是否也存在相同的表观遗传学调控机制还需要进一步探讨。以 Neogenin^[29]为例, 虽然其启动子区存在明显的 CpG 岛, 但是无论结肠癌还是在肺癌(数据尚未发表)等其它类型的癌组织中都没有明显的甲基化现象。

4.3 转录因子的调控

UNC5B 已经证明^[33]是 p53 的下游基因, 在 UNC5B 的第一个内含子中拥有一个 p53 的结合序列。通过 RNA 干扰的方式下调 UNC5B 可以明显抑制 p53 诱导的凋亡, 提示 UNC5B 作为 p53 诱导凋亡的一个转录水平的靶点, 发挥着促凋亡的作用; 而当肿瘤中 p53 的突变或者缺失情况下, 也明显下调 UNC5B 的表达水平。最新的研究^[34]通过染色质免疫共沉淀技术证实了 UNC5A 也是 p53 的下游靶基因。有意思的是, Netrin-1 可以完全抑制 p53 所诱导的凋亡, 当 Netrin-1 和 UNC5B 结合时, 尽管 p53 蛋白的依然稳定表达而聚集, 但是在功能上处于失活状态, 从这种意义上讲, Netrin-1 可以被认为是一种原癌基因^[35]。近期的研究^[36]发现, 在肿瘤的产生中, NF- κ B 处于活化状态, 导致很多基因的表达升

高, 通过 DNA 水平的比对, 发现 Netrin-1 启动调节区内有 NF- κ B 保守结合序列, 通过报告基因检测和 ChIP 检测, 证实了 NF- κ B 可以上调 Netrin-1 的表达, 诱导细胞的存活和迁移。这也从转录因子水平上解释了 Netrin-1 受体表达水平变化的机制。然而, 目前对 Netrin-1 及其受体的调控机制的研究仍然不明确, 有很多研究人员试图从 SNP 以及 DNA 突变的角度来阐述它们表达改变的机制。

5 Netrin-1 及其受体在肿瘤临床研究中的意义

目前, 在治疗肿瘤的方案中有一种理论, 即重新激活肿瘤细胞的促凋亡通路。基于这种理论, Netrin-1 受体分子可能成为未来治疗肿瘤的靶蛋白。恢复这类受体分子的表达似乎并不困难, 而干扰其与配体的结合看起来更容易实现。Netrin-1 在不同肿瘤中的表达均上调, 这为未来的分子靶向治疗提供了新的方案, 例如合成类似 DCC 或者 UNC5Hs 受体的细胞外区作为诱饵, 它们可以和细胞外环境中的 Netrin-1 竞争结合, 导致细胞本身表面的 DCC 或 UNC5Hs 处于未结合状态而启动细胞凋亡通路。也有科学家提出合成受体分子的第四、五 fibronectin 样功能区肽段, 尽管这些肽段并不影响与 Netrin-1 的结合, 但是阻止由 Netrin-1 诱导的受体多聚体的形成^[37]。此外, 也有通过阻断性抗体或者功能域的肽段复合体等阻断性分子, 来干扰 Netrin-1 与受体的结合。更有意义的是, Netrin-1 高表达的肿瘤包括成神经细胞瘤^[35]、转移性乳腺癌^[38]、非小细胞性肺癌以及胰腺癌^[27], 这类肿瘤目前的治疗方案目前都不理想, 需要研发更为有效的治疗手段。从临床的诊断来看, 研究人员通过对不同临床分期(TNM)的结肠癌患者进行统计学分析^[32]发现, 肿瘤早期(T1N0M0)患者中 UNC5C 的表达就已经发生改变, 且主要是由启动子区的甲基化引起的, 而一般处于晚期(T3-4N1-2M0)的患者则并发 DCC 的缺失。在非小细胞性肺癌患者中, 同样也发现早期患者就出现 UNC5Hs 表达下调以及 Netrin-1 的过表达现象^[27], 提示了 UNC5C 作为早期肿瘤诊断标志物的可能。同时, 研究^[35]发现, Netrin-1 的过表达一般出现在 IV 期的成神经细胞瘤且预后效果较差的患者, 以及转移性乳腺癌患者中, 它也可以作为一种重要的诊断标志物应用到临床研究中去。

6 结语

Netrin-1 及其受体在调控肿瘤发生的作用逐渐被研究人员所认识; 部分受体具有抗肿瘤以及抑制

血管形成的功能,为未来研制抗肿瘤新药提供了可能性。而 Netrin-1 本身的促细胞增殖和迁移以及促进血管形成的作用,也有可能成为肿瘤治疗的重要靶点。对 Netrin-1 及其受体信号通路的研究还远远不够,对 Netrin-1 受体所引发凋亡的具体机制尚有待研究,相信对 Netrin-1 及其受体的研究有望为肿瘤生物治疗提供新的策略。

[参 考 文 献]

- [1] Hedgecock EM, Culotti JG, Hall DH, et al. The unc-5, unc-6, and unc-40 genes guide circumferential migratons of pioneer axons and mesodermal cells on the epidermis in *C. elegans* [J]. *Neuron*, 1990, 4(1): 61-85.
- [2] Thiebault K, Mazelin L, Pays L, et al. The netrin-1 receptors UNC5H are putative tumor suppressors controlling cell death commitment [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(7): 4173-4178.
- [3] Cirulli V, Yebra M. Netrins: Beyond the brains [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(4): 296-306.
- [4] Mehlen P, Fearon ER. Role of the dependence receptor DCC in colorectal cancer pathogenesis [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 15(22): 3420-3428.
- [5] Liu G, Li W, Wang Li, et al. DSCAM functions as a netrin receptor in commissural axon pathfinding [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(8): 2951-2956.
- [6] Mc Kenna WL, Wong-Staal C, Kim GC, et al. Netrin-1-independent adenosine A2b receptor activation regulates the response of axons to netrin-1 by controlling cell surface levels of UNC5A receptors [J]. *J Neurochem*, 2008, 104(4): 1081-1090.
- [7] Larrivee B, Freitas C, Trombe M, et al. Activation of the UNC5B receptor by Netrin-1 inhibits sprouting angiogenesis [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(19): 2433-2447.
- [8] Wilson BD, Li M, Park KW, et al. Netrins promote developmental and therapeutic angiogenesis [J]. *Science*, 2006, 313(5787): 640-644.
- [9] Adams RH, Eichmann A. Axon guidance molecules in vascular patterning [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(5): a001875.
- [10] Goldschneider D, Mehlen P. Dependence receptors: A new paradigm in cell signaling and cancer therapy [J]. *Oncogene*, 2010, 29(13): 1865-1882.
- [11] Rodrigues S, de Wever O, Bruyneel E, et al. Opposing roles of netrin-1 and the dependence receptor DCC in cancer cell invasion, tumor growth and metastasis [J]. *Oncogene*, 2007, 26(38): 5615-5625.
- [12] Matsunaga E, Tauszig-Delamasure S, Monnier PP, et al. RGM and its receptor neogenin regulate neuronal survival [J]. *Nat Cell Biol*, 2004, 6(8): 749-755.
- [13] Rabizadeh S, Oh J, Zhong, LT, et al. Induction of apoptosis by the low-affinity NGF receptor [J]. *Science*, 1993, 261(5119): 345-348.
- [14] Bordeaux MC, Forcet C, Granger L, et al. The RET proto-oncogene induces apoptosis: A novel mechanism for Hirschsprung disease [J]. *EMBO J*, 2000, 19(15): 4056-4063.
- [15] Tauszig-Delamasure S, Yu LY, Cabrera JR, et al. The TrkC receptor induces apoptosis when the dependence receptor notion meets the neurotrophin paradigm [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(33): 13361-13366.
- [16] Thibert C, Teillet MA, Lapointe F, et al. Inhibition of neuroepithelial patched-induced apoptosis by sonic hedgehog [J]. *Science*, 2003, 301(5634): 243-246.
- [17] Furne C, Ricard J, Cabrera JR, et al. Ephron B3 is an anti-apoptotic ligand that inhibits the dependence receptor functions of EphA4 receptors during adult neurogenesis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793(2): 231-238.
- [18] Mourali J, Benard A, Lourenco FC, et al. Anaplastic lymphoma kinase is a dependence receptor whose proapoptotic functions are activated by caspase cleavage [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(16): 6209-6222.
- [19] Tulasne D, Deheuninck J, Lourenco FC, et al. Proapoptotic function of the MET tyrosine kinase receptor through caspase cleavage [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(23): 10328-10339.
- [20] Stupack DG, Puente XS, Boutsaboualoy S, et al. Apoptosis of adherent cells by recruitment of caspase-8 to unligated integrins [J]. *J Cell Biol*, 2001, 155(3): 459-470.
- [21] Mehlen P, Rabizadeh S, Snipas SJ, et al. The DCC gene product induces apoptosis by a mechanism requiring receptor proteolysis [J]. *Nature*, 1998, 395(6704): 801-804.
- [22] Liambi F, Lourenco FC, Gozuacik D, et al. The dependence receptor UNC5H2 mediates apoptosis through DAP-kinase [J]. *EMBO J*, 2005, 24(6): 1192-1201.
- [23] Guenebeaud C, Goldschneider D, Castets M, et al. The dependence receptor UNC5H2/B triggers apoptosis via PP2A-mediated dephosphorylation of DAP kinase [J]. *Mol Cell*, 2010, 40(6): 863-876.
- [24] Williams ME, Strickland P, Watanabe K, et al. UNC5H1 induces apoptosis via its juxtamembrane region through an interaction with NRAGE [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(19): 17483-17490.
- [25] Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, et al. Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers [J]. *Science*, 1990, 247(4938): 49-56.
- [26] Miyake K, Inokuchi K, Dan K, et al. Expression of the DCC gene in myelodysplastic syndromes and overt leukemia [J]. *Leukemia Res*, 1993, 17(9): 785-788.
- [27] Delloye-Bourgeois C, Brambilla E, Coissieux MM, et al. Interference with netrin-1 and tumor cell death in non-small cell lung cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101(4): 237-247.
- [28] Andrea P, Maise C, Coissieux MM, et al. Netrin-1 up-regulation in inflammatory bowel diseases is required for colorectal cancer progression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(40): 17146-17151.
- [29] Vivian SW, Suet YL. Frequent inactivation of axon guidance molecule RGMA in human colon cancer through genetic and epigenetic mechanisms [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(1): 176-187.
- [30] Rodrigues S, De Wever O, Bruyneel E, et al. Opposing roles of

- netrin-1 and the dependence receptor DCC in cancer cell invasion, tumor growth and metastasis [J]. *Oncogene*, 2007, 26(38): 5615-5625.
- [31] Hibi K, Sakata M, Sakuraba K, et al. Methylation of the DCC gene is lost in advanced gastric cancer [J]. *Anticancer Res*, 2010, 30: 107-109.
- [32] Shin SK, Nagasaka T, Jung BH, et al. Epigenetic and genetic alternation in Netrin-1 receptors UNC5C and DCC in human colon cancer [J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(6): 1849-1857.
- [33] Tanikawa C, Matsuda K, Fukuda S, et al. p53RDL1 regulates p53-dependent apoptosis [J]. *Nature Cell Biol*, 2003, 5(3): 216-223.
- [34] Miyamoto Y, Futamura M, Kitamura N, et al. Identification of UNC5A as a novel transcriptional target of tumor suppressor p53 and a regulator of apoptosis [J]. *Int J Oncol*, 2010, 36(5): 1253-1260.
- [35] Delloye-Bourgeois C, Fitamant J, Paradisi A, et al. Netrin-1 acts as a survival factor for aggressive neuroblastoma [J]. *J Exp Med*, 2009, 206(4): 833-847.
- [36] Paradisi A, Maisse C, Bernet A, et al. NF- κ B regulates netrin-1 expression and affects the conditional tumor suppressive activity of the netrin-1 receptors [J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(4): 1248-1257.
- [37] Mille F, Liambi F, Guix C, et al. Interfering with multimerization of netrin-1 receptors triggers tumor cell death [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(10): 1344-1351.
- [38] Fitamant J, Guenebeaud C, Coissieux MM, et al. Netrin-1 expression confers a selective advantage for tumor cell survival in metastatic breast cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(12): 4850-4855.
- [收稿日期] 2010-09-02 [修回日期] 2010-12-25
[本文编辑] 韩丹

· 科技动态 ·

胃癌细胞株 AZ-P7a 通过外泌体分泌 let-7 microRNAs 维持其高转移性

外泌体(exosomes)是细胞分泌的膜性小泡,参与细胞间通讯。靶细胞通过胞吞作用摄取外泌体中的蛋白质、mRNAs 和 microRNAs(miRNAs)等。miRNAs 调节着多种细胞生物学过程,包括致癌、通过降解靶标 RNA 或干扰其翻译介导靶基因沉默。肿瘤患者循环血浆或血清中的 miRNAs 可包裹于外泌体中而免遭降解,但外泌体内 miRNAs 与肿瘤转移间的关系并不清楚。

作者首先收集和纯化了 46 种不同组织类型肿瘤细胞的外泌体。透射电镜观察到其中高转移潜能胃癌 AZ-P7a 细胞外泌体形态更紧密一致,直径近 100 nm;免疫电子显微镜发现,AZ-P7a 细胞外泌体膜表达 CD63 分子;Western blotting 证实,AZ-P7a 细胞外泌体含有外泌体蛋白 CD29/b1 整合素、Aip1/AlixIn 和 Tsg101,但没有内质网蛋白 Bip/Grp78。此外,还发现 AZ-P7a 细胞外泌体内蛋白质含量比低转移潜能胃癌 AZ-521 细胞外泌体高。接着,作者检测了 46 种肿瘤细胞外泌体中 RNA,发现 AZ-P7a 细胞外泌体内 RNA 含量远比其他肿瘤细胞的高,并且含有大量 miRNAs。与 AZ-521 细胞相比,AZ-P7a 细胞外泌体内 miRNAs 含量更高,由于 AZ-P7a 细胞是 AZ-521 细胞反复接种小鼠产生的高转移潜能细胞株,AZ-P7a 细胞内较高的蛋白质和 miRNAs 可能与其致癌性和转移性有关。作者又通过生物芯片技术(microarray analysis)发现,多种 let-7 miRNAs 在胃癌 AZ-521 和 AZ-P7a 细胞、肺癌 SBC-3、NCI-H69 和 DMS-53 细胞、结肠癌 SW480 和 SW620 细胞内含量较高,但只有 AZ-P7a 细胞外泌体和培养上清中可检出这些 let-7 miRNAs,其他肿瘤细胞外泌体或细胞培养上清中均无或仅有微量 let-7 miRNAs。

作者再用定量 RT-PCR 进一步分析生物芯片的结果,在 AZ-P7a 和 AZ-521 细胞内、培养上清中均发现了 let-7 miRNAs,且 AZ-P7a 细胞外泌体和培养上清中 let-7 miRNAs(let-7a、let-7b、let-7c、let-7d、let-7e 和 let-7i)水平均比 AZ-521 细胞的高;而两者细胞内 let-7 miRNAs 水平无明显差异。进一步比较 AZ-P7a 细胞与其他肿瘤细胞(SBC-3、NCI-H69、DMS53、SW480 和 SW620)外泌体中 let-7a 的水平,发现除 SW620 细胞外泌体 let-7a 水平与 AZ-P7a 细胞的接近外,其余均较低;并且仅有 AZ-P7a 细胞外泌体中 let-7a 比例与细胞内一致,其余细胞外泌体中 let-7a 比例均明显低于细胞内 let-7a 比例。这些结果提示,AZ-P7a 细胞可选择性地将 let-7 miRNAs 通过外泌体主动分泌到细胞外。

总之,let-7 miRNAs 作为 Ras 和 HMGA2 的抑癌基因,其大量存在于 AZ-P7a 细胞外,尤其是细胞外泌体中,提示 AZ-P7a 细胞通过将 let-7 miRNAs 以外泌体形式分泌到细胞外,维持其致癌性和高转移性。

[陈屹摘译,徐红梅审阅. Ohshima K, Inoue K, Fujiwara A, et al. *PLoS ONE*, 2010, 5(10): e13247]