

TGF-β 信号通路在肿瘤侵袭转移中的作用

李凡妮 郭青龙[△]

(中国药科大学 江苏 南京 210009)

摘要: TGF-β 信号通路是一个重要的细胞内信号转导通路,能够通过影响肿瘤微环境、增强肿瘤迁移运动能力和抑制免疫细胞功能来促进肿瘤细胞的侵袭转移。TGF-β 信号通路与肿瘤发展之间密切的联系使得 TGF-β 信号转导通路成为治疗肿瘤的新靶点。本文通过查阅近年来相关文献,概括 TGF-β 在肿瘤侵袭转移中所起作用的研究进展,并在此基础上对新型抗 TGF-β 药物治疗进行了展望。

关键词: TGF-β ; 肿瘤; 侵袭; 转移

中图分类号: R730.231 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273 (2011) 21-4194-04

Effect of TGF-β Pathway in Tumor Metastasis

LI Fan-ni, GUO Qing-long[△]

(China Pharmaceutical University Jiangsu Nanjing 210009, People's Republic of China)

ABSTRACT: Transforming growth factor-β (TGF-β) pathway is an important intracellular signal transduction pathways, it can promote cancer metastasis through its effects on the tumor microenvironment, enhanced migration properties, and inhibition of immune cell function. A close link between TGF-β signaling and cancer progression has made this signaling pathway as a new therapeutic target. In this paper, we study the correlative references of recent years, summarize the advances in the research of TGF-β 's effect on tumor metastasis. Basing on this, we prospect the research of the novel TGF-β -based therapies in the future.

Key words: TGF-β ; Tumor; Invasion; Metastasis

Chinese Library Classification(CLC): R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273 (2011) 21-4194-04

前言

转化生长因子 β (TGF-β) 信号通路是一条极为重要的细胞内信号转导途径,调控多种不同的细胞生物学效应,其中包括细胞的增殖、分化、迁移和粘附、程序性死亡即凋亡等。大量的体内体外实验表明,TGF-β 能够通过影响肿瘤微环境、增强侵袭性质和抑制免疫细胞功能来促进肿瘤细胞的转移。TGF-β 信号通路与肿瘤发展之间密切的联系使得 TGF-β 信号转导通路成为肿瘤治疗的新靶点,其在抑制肿瘤发生转移机制过程中具有重要意义。然而,由于 TGF-β 信号通路复杂的特性,所以针对 TGF-β 的肿瘤靶向治疗具有很大的风险。要研发出供临床使用的 TGF-β 抑制剂就需要更加深入的研究 TGF-β 信号通路和其发挥作用的具体机制。

1 TGF-β 信号通路

TGF-β 超家族是由一类结构、功能相关的多肽生长因子亚家族组成,其中包括 TGF-β、活化素(activins)、抑制素(inhibins)、骨形态发生蛋白(bone morpho-genetic proteins BMP)、生长分化因子(GDF)、缪勒氏管抑制物质(Mullerian inhibitor sub-

stance, MIS) 等。哺乳动物的 TGF-β 有三种亚型 TGF-β 1、TGF-β 2 和 TGF-β 3,由两个结构相同或相近的、含 112 个氨基酸残基、分子量为 12.5kDa 的亚单位借二硫键连接成二聚体多肽^[1]。激活的 TGF-β 细胞因子通过与 I 型和 II 型两种类型的 TGF-β 跨膜丝氨酸/苏氨酸激酶受体结合,形成异源复合物从而启动细胞反应。人类基因编码 7 种 I 型 TGF-β 受体(ALKs 1-7),5 种 II 型受体(ActR- II a, ActR- II B, BMPR II, AMHR II, Tβ R II),这些受体能配对组合成不同的受体复合物分别与不同的 TGF-β 家族成员结合。例如 TGF-β 1 配体传导信号时先与 Tβ R II 型受体和 ALK5 I 型受体复合物结合。另外,除了 I 型 II 型这两种经典 TGF-β 受体以外,III 型受体为蛋白多糖,含有类肝素、硫酸葡糖胺聚糖链。

TGF-β 首先与细胞膜表面的 II 型受体结合,形成二元复合物。II 型受体是组成性的自动磷酸化,即在未与配体结合时就已经发生磷酸化。I 型受体不能单独与 TGF-β 自由结合,它是在 II 型受体与 TGF-β 结合形成二元复合物后,识别这个二元复合物,并与之结合形成三元复合物。在此过程中,II 型受体胞浆区的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶结构域可将 I 型受体胞浆区 GS 结构域(I 型受体的胞浆区蛋白激酶结构 N 端与细胞膜之间,存在 1 个富含丝氨酸和甘氨酸的结构域,称为 GS 结构域)的丝氨酸/苏氨酸磷酸化,从而使 I 型受体活化^[2]。活化的 I 型受体能破坏 TGF-β 信号抑制剂 FKBP12 与蛋白激酶结构域的相互作用,使 FKBP12 从活性位点解离,再进一步结合下游的 Smads 转录因子,磷酸化 Smads C 端 Ser 残基,如果 Smads 没有磷酸化则其转录活性未激活^[3]。

作者简介:李凡妮(1986-),女,硕士研究生,主要研究方向:肿瘤侵袭转移的机制。Tel:13809034743 Email: fff8821@126.com

△通讯作者:郭青龙,中国药科大学生理教研室主任,教授,博士生导师,江苏省肿瘤发生与干预实验室主任,

Email: anticancer_drug@yahoo.com.cn

(收稿日期:2011-04-06 接受日期:2011-04-30)

胞)的功能减弱 T 细胞的活性。在免疫反应过程中,树突状细胞成熟并具有刺激 T 细胞的能力,但是,这一活化过程能被 TGF- β 阻断^[8]。另外,TGF- β 介导免疫逃避的其它靶点包括抑制自然杀伤细胞和嗜中性粒细胞。

2.2 血管生成

肿瘤血管的生成对于肿瘤细胞的生长和扩散起到十分关键的作用,内皮细胞和血管的聚集使得快速生长的肿瘤吸收生长所需的营养物质和氧。事实上,TGF- β 能诱导促血管生成的微环境并刺激血管生成,如 TGF- β 信号通路能直接诱导一些关键的血管生成介质如血管内皮生长因子(VEGF)和结缔组织生长因子(CTGF)的产生^[9]。肿瘤内部缺氧的环境促使 TGF- β 信号通过激活低氧诱导因子-1 (HIF1) 和 Smad 蛋白来提高 VEGF 的 mRNA 水平。另外,TGF- β 能够调控肿瘤细胞和内皮细胞中金属蛋白酶 MMP-2 和 MMP-9 的表达,分泌和活性并且下调蛋白酶抑制剂 TIMP,增强血管生成所需的内皮细胞的迁移侵袭特性^[10]。

此外,TGF- β 信号通路组成有缺陷的小鼠模型能进一步证明 TGF- β 信号通路在正常血管组织发展中的重要性。如 TGF β 1, T β RII, and T β RI/ALK5 的失活使得产生明显的血管生成缺陷,导致实验动物死亡^[11]。同时,小鼠模型也说明了肿瘤细胞分泌的 TGF- β 在肿瘤血管生成过程中所起的作用。增加前列腺癌细胞或仓鼠卵巢细胞中 TGF- β 的表达,导致血管生成反应的增强,而这一反应能被 TGF- β 中和抗体阻断^[12]。这些结果均说明 TGF- β 无论作用于肿瘤细胞还是细胞外微环境都能以多种方式刺激肿瘤血管生成。

2 TGF- β 对肿瘤的促进作用

2.1 免疫抑制和免疫逃避

2.3 上皮-间质转化

在肿瘤原发灶中肿瘤中央的细胞呈现上皮表型,而周围的细胞常分散呈现间质细胞表型,具有较强的运动能力,可浸润和转移,即所谓的上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)。已有研究证实 TGF- β 是诱导发生 EMT 的关键因子,它能和其它细胞因子共同协作诱导 EMT 的发生^[13]。

TGF- β 主要通过 Smad 分子依赖的细胞转录过程,也可以通过非 Smad 分子依赖的信号传导途径和转录调控因子作用于细胞连接复合物引起 EMT 发生。在多种肿瘤细胞中细胞间粘附蛋白如 E-钙粘蛋白(E-cadherin)表达下调是 EMT 发生的重要标志^[14]。TGF- β 信号通路诱导的 EMT 通过 Smad 介导的高迁移率族蛋白 A2(HMGA2)的表达诱导 Snail 和 Slug,它们是锌指转录因子能够抑制 E-cadherin 基因。另外,TGFBR2 介导的 Par6 磷酸化促进细胞连接复合物解离^[15]。因此,TGF- β 诱导肿瘤细胞 EMT 的发生,在某种程度上来说,是依赖 TGF- β 诱导 E-cadherin 基因转录抑制因子的表达以及改变细胞连接体来实现的。

然而,近来对乳腺癌发生 EMT 研究时发现 TGF- β 还能够增加细胞的侵袭迁移能力,TGF- β 和 EMT 诱导因子如 Twist, Snail 都能够促使肿瘤干细胞细胞表面标记的表达。研究表明 CD44hi/CD24lo 标记的乳腺癌干细胞中过表达 TGF- β 信号通路的组成成分^[16]。当加入 T β RI 激酶抑制剂后诱导干细胞更多表达上皮细胞表型而去除间质细胞表型,这说明 CD44hi/CD24lo 标记的细胞能利用 TGF- β 信号通路维持肿瘤

人类抗肿瘤防御体系构成的关键要素之一就是机体的免疫系统。随着肿瘤的形成,T淋巴细胞和自然杀伤细胞识别肿瘤细胞并对其特异地清除。但肿瘤细胞可以利用 TGF- β 的免疫抑制功能来逃避免疫系统监控。TGF- β 可抑制 T、B 淋巴细胞的增殖,并抑制 B 淋巴细胞产生免疫因子。在转基因小鼠研究中发现,与野生型基因小鼠对照相比较,CD4+ 或 CD8+ T 淋巴细胞表面表达显性失活的 TGFBR2 能更有效的清除胸腺瘤和黑色素瘤细胞,这一结果说明 T 淋巴细胞是 TGF- β 负性调控的重要靶点^[7]。此外,近期的研究还揭示了 TGF- β 抑制 CD8+ T 淋巴细胞免疫活性的分子机制。通过作用于 Smad 通路,TGF- β 抑制溶细胞因子的产生,包括穿孔蛋白,caspase 激活分泌因子颗粒酶 A 和颗粒酶 B,促凋亡因子 Fas 配体和 γ 干扰素。TGF- β 也可以通过抑制抗原提呈细胞(如树突状细胞)

增殖的特性进而发生 EMT。

3 TGF- β 在肿瘤转移中的作用

3.1 TGF- β 与骨转移

最近研究揭示 TGF- β 在乳腺癌, 前列腺癌骨转移的发生中扮演重要角色, 骨基质中存在丰富的 TGF- β 是影响骨转移过程的重要生长因子之一。转移细胞到达骨组织释放促转移因子, 它能激活破骨细胞分化。这一过程一旦被激活, 破骨细胞降解骨基质并且释放大量 TGF- β 。组织学分析表明 75% 的人类骨转移病理切片在转移的细胞其细胞核内发现了有磷酸化的 Smad2, 这表明 TGF- β 信号通路激活并发挥功能^[7]。当肿瘤细胞敲除 Smad4, 抑制 Smad7 的表达或表达显性失活的 TGF- β 受体, 这些都可以阻断 TGF- β 信号通路, 明显减少乳腺癌和黑色素瘤模型的骨转移, 进一步说明 TGF- β 信号通路参与骨转移过程^[8]。

TGF- β 还可以通过 Smad 和 MAPK 信号通路促使骨吸收因子, 如甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP), 核转录因子 κ B 配体受体激活剂(RANKL)的表达。TGF- β 诱导的 PTHrP 通过增加成骨细胞和基质细胞 RANKL 的表达, 减少骨保护素表达, 促进骨基质溶解, 发生骨转移^[9]。

3.2 临床上 TGF- β 与肿瘤复发的相互关系

目前对于 TGF- β 在乳腺癌转移中所起的作用产生了很多争论和分歧, 有不同的解释和回答。然而, 对 TGF- β 研究的最终目的是揭示 TGF- β 对人类疾病的影响, 所以研究人员已经转向观察临床病例来研究 TGF- β 信号通路与转移之间是否存在密切关系。已有研究报道, 在胃癌, 胰腺癌, 卵巢癌, 肝癌和肺癌中 TGF- β 受体和 Smad 蛋白转录因子作为肿瘤抑制因子经常失活^[10]。然而, 在乳腺癌, 神经胶质母细胞瘤, 黑色素瘤等其它类型肿瘤中, 选择性丢失 TGF- β 介导的生长抑制反应则是通过改变下游 Smad 从而发挥促肿瘤优势的。已有研究发现, Smad4 的缺失或突变是胰腺癌等恶性肿瘤复发转移的重要因素之一。事实上, 很多研究报导对于结肠癌, 前列腺癌, 膀胱癌, 乳腺癌, 胰腺癌, 肾癌, 骨髓瘤和淋巴瘤, 临床上手术前或手术后血浆中 TGF- β 水平与肿瘤转移有相关性^[11]。研究人员定义了一套有 153 个 TGF- β 信号通路中的靶基因所组成的 TGF- β 反应特征信号(TGF- β response signature, TBRS), 可以运用此特征信号作为一种生物信息学工具来评估临床病例 TGF- β 通路反应状态。在雌激素受体阴性的乳腺癌患者中, TGF- β 受体低表达常伴有较好的愈后效果, 而 TGF- β 1 的过表达与远处复发转移的高发生率密切相关。

3.3 TGF- β 与肺转移

在原发性肿瘤中 TGF- β 信号通路的激活, TBRS 的高表达, 这些能选择性的增强肿瘤肺转移。在雌激素受体阴性(ER-)乳腺癌患者中, TBRS 与肺转移相关, 但与骨转移无关, 且 TBRS 与 ER+ 乳腺癌细胞的转移亦无关。对 TBRS 基因表达谱与肺转移信号(LMS)基因表达谱的比较显示, TBRS 和 LMS 双阳性 ER 阴性乳腺癌肺转移危险高。在 MDA-MB-231 ER- 乳腺癌细胞小鼠异植瘤转移模型中, 通过表达显性失活的 TGF- β 受体或减少 Smad4 转录因子的表达来抑制 TGF- β 信号通路, 这可以减弱原发肿瘤向肺部的转移能力。为了深入研究

TGF- β 信号通路中的何种成分在乳腺癌细胞的恶性转移过程中起着关键的作用, 促使原发瘤向远处转移的, 研究人员发现 TBRS 中一种名为血管重塑基因血管生成素样蛋白 4 (ANGPTL4) 的细胞因子, 它能够干扰内皮细胞之间的相互作用, 同时, 过表达 ANGPTL4 的乳腺癌细胞能够以两倍于原来的速度突破体内的内皮细胞屏障。ANGPTL4 与 TGF- β 信号通路之间存在直接的关联。首先, 体外培养条件下 TGF- β 能够大幅上调 ER- 乳腺癌原代细胞 ANGPTL4 的表达水平; 其次, 乳腺癌在 Angptl4 基因敲除小鼠中的肺转移发生率只有正常小鼠的十分之一。在许多乳腺癌病例中 ANGPTL4 能作为 TGF- β 信号通路典型靶点来识别, 当 ER 阴性乳腺癌细胞进入循环, 到达肺毛细血管时, TGF- β 通过激活 Smad 信号通路诱导 ANGPTL4 产生, 它能破坏血管内皮细胞间连接, 增加肺毛细血管通透性, 从而使肿瘤细胞溢出血管, 更有效地进入肺实质^[12]。

4 结论与展望

肿瘤转移是恶性肿瘤最主要的生物学特性, 也是导致治疗失败、患者死亡的主要原因。临床实验结果表明, TGF- β 在肿瘤转移过程中起到非常重要的作用, 由此 TGF- β 成为抗转移治疗研究的重要靶标。实际上, 正在研制能有效抑制 TGF- β 信号通路的药物, 如针对 TGF- β 受体激酶的小分子抑制剂, 大分子抑制性抗体以及基于核酸的治疗, 最终目标就是能将这治疗用于癌症患者。同任何药物一样, 新型抗 TGF- β 药物治疗本身具有小的致死率和发生并发症的风险, 但是运用这种新治疗方法的优点是远远超过其风险的。综上所述, 针对 TGF- β 信号通路的抗肿瘤侵袭转移将成为今后研究的热点。

参考文献 (References)

- [1] Gray, A.M. and A.J. Mason, Requirement for activin A and transforming growth factor--beta 1 pro-regions in homodimer assembly[J]. Science, 1990. 247: 1328-1330
- [2] Wrana J.L., et al. Mechanism of activation of the TGF-beta receptor [J]. Nature, 1994. 370: 341-347
- [3] Huse M., et al. Crystal structure of the cytoplasmic domain of the type I TGF beta receptor in complex with FKBP12 [J]. Cell, 1999. 96: 425-436
- [4] Massague J., J. Seoane, and D. Wotton, Smad transcription factors[J]. Genes Dev, 2005. 19: 2783-2810
- [5] Tsukazaki T., et al. SARA, a FYVE domain protein that recruits Smad2 to the TGFbeta receptor[J]. Cell, 1998. 95: 779-791
- [6] Feng, X.H. and R. Derynck. Specificity and versatility in tgf-beta signaling through Smads[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2005. 21: 659-693
- [7] Gorelik, L. and R.A. Flavell, Immune-mediated eradication of tumors through the blockade of transforming growth factor-beta signaling in T cells[J]. Nat Med, 2001. 7: 1118-1122
- [8] Geissmann F., P. Revy, and A. Regnault, TGF-beta 1 prevents the noncognate maturation of human dendritic Langerhans cells[J]. J Immunol, 1999. 162: 4567-4575
- [9] Kang, Y., P.M. Siegel, and W. Shu. A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone[J]. Cancer Cell, 2003. 3: 537-549
- [10] Hasegawa Y., et al. Transforming growth factor-beta1 level corre-

- lates with angiogenesis, tumor progression, and prognosis in patients with nonsmall cell lung carcinoma[J]. *Cancer*, 2001. 91: 964-971
- [11] Larsson, J., M.J. Goumans, and L.J. Sjostrand, Abnormal angiogenesis but intact hematopoietic potential in TGF-beta type I receptor-deficient mice[J]. *EMBO J*, 2001. 20: 1663-1673
- [12] Stearns M.E., et al. Role of interleukin 10 and transforming growth factor beta1 in the angiogenesis and metastasis of human prostate primary tumor lines from orthotopic implants in severe combined immunodeficiency mice[J]. *Clin Cancer Res*, 1999. 5: 711-720
- [13] Derynck, R. and R.J. Akhurst, Differentiation plasticity regulated by TGF-beta family proteins in development and disease[J]. *Nat Cell Biol*, 2007. 9: 1000-1004
- [14] Miettinen P.J., et al. TGF-beta induced transdifferentiation of mammary epithelial cells to mesenchymal cells: involvement of type I receptors[J]. *J Cell Biol*, 1994. 127: 2021-2036
- [15] Ozdamar B., et al. Regulation of the polarity protein Par6 by TGF-beta receptors controls epithelial cell plasticity[J]. *Science*, 2005. 307: 1603-1609
- [16] Shipitsin, M., L.L. Campbell, and P. Argani. Molecular definition of breast tumor heterogeneity[J]. *Cancer Cell*, 2007. 11: 259-273
- [17] Kang, Y., W. He, and S. Tully. Breast cancer bone metastasis mediated by the Smad tumor suppressor pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005. 102: 13909-13914
- [18] Javelaud, D., K.S. Mohammad, and C.R. McKenna. Stable overexpression of Smad7 in human melanoma cells impairs bone metastasis [J]. *Cancer Res*, 2007. 67: 2317-2324
- [19] Kingsley, L.A., et al. Molecular biology of bone metastasis [J]. *Mol Cancer Ther*, 2007. 6: 2609-2617
- [20] Bierie, B. and H.L. Moses. Tumour microenvironment: TGFbeta: the molecular Jekyll and Hyde of cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006. 6: 506-520
- [21] Massague J. TGFbeta in cancer[J]. *Cell*, 2008. 134: 215-230
- [22] Padua, D., X.H. Zhang, and Q. Wang. TGFbeta primes breast tumors for lung metastasis seeding through angiopoietin-like 4[J]. *Cell*, 2008. 133: 66-77

(上接第 4193 页)

- [14] Ito Y, Yoshida H, Tomoda C, et al. Telomerase activity in thyroid neoplasms evaluated by the expression of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) [J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(1B): 509-514
- [15] Kammori M, Nakamura K, Hashimoto M, et al. Clinical application of human telomerase reverse transcriptase gene expression in thyroid follicular tumors by fine-needle aspirations using in situ hybridization[J]. *Int J Oncol*, 2003, 22(5): 985-991
- [16] Wang YH, Kowalski J, Tsai H, et al. Differentiating alternative splice variant patterns of human telomerase reverse transcriptase in thyroid neoplasms[J]. *THYROID*, 2008, 10(10): 1055-1063
- [17] ChoMar K, Eimoto T, Tateyama H, et al. Expression of matrix metalloproteinases in benign and malignant follicular thyroid lesions [J]. *Histopathology*, 2006, 48(3): 286-294
- [18] Monig SP, Baldus SE, Hennecken JK, et al. Expression of MMP-2 associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma[J]. *Histopathology*, 2001, 39(4): 597-602
- [19] Friguglietti CU, Mello ES, Castro IV, et al. Metalloproteinase-9 immunorexpression and angiogenesis in thyroid follicular neoplasms: relation to clinical and histopathologic features[J]. *Head Neck*, 2000, 22(4): 373-379
- [20] 于华众, 李章平, 李上共, 等. 血浆 MMPs 活性检测对甲状腺乳头状癌患者的临床意义[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2005, 19(2): 87-90
Yu Hua-zhong, Li Zhang-ping, Li Shang-gong, et al. Change and significance of the serous activity of matrix metalloproteinases in patients with papillary thyroid carcinoma [J]. *Journal of Practical Oncology*, 2005, 19(2): 87-90
- [21] Costante G, Meringolo D, Durante C, et al. Predictive value of serum calcitonin levels for preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma in a cohort of 5817 consecutive patients with thyroid nodules [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(2): 450-455
- [22] Bugalho MJ, Santos JR, Sobrinho L. Preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma: fine needle aspiration cytology as compared with serum calcitonin measurement [J]. *J Surg Oncol*, 2005, 91(1): 56-60
- [23] Micolli P, Minuto MN, Ugolini C, et al. Clinically unpredictable prognostic factors in the outcome of medullary thyroid cancer [J]. *Endocrine-Related Cancer*, 2007, 14(4): 1099-1105
- [24] Fluge O, Bruland O, Akslen LA, et al. Gene expression in poorly differentiated papillary thyroid carcinomas [J]. *THYROID*, 2006, 16(2): 161-175
- [25] Chia S, Milas M, Sethu K, et al. Thyroid-stimulating hormone receptor messenger ribonucleic acid measurement in blood as a marker for circulating thyroid cancer cells and its role in the preoperative diagnosis of thyroid cancer [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(2): 468-475
- [26] Chinnappa P, Taguba L, Arciaga R, et al. Detection of thyrotropin-receptor messenger ribonucleic acid (mRNA) and thyroglobulin mRNA transcripts in peripheral blood of patients with thyroid disease: sensitive and specific markers for thyroid cancer [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(8): 3705-3709
- [27] Milas M, Bsrbosa GF, Mitchell J, et al. Effectiveness of peripheral thyrotropin receptor mRNA in follow-up of differentiated thyroid cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16(2): 473-480