

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.05.047

ASPH 在肿瘤中的研究进展 *

王 暘 姜 莹 牛海增 史艳辉 陈雪松[△]

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要: ASPH 是哺乳动物胚胎期即存在于细胞内的一种高度保守的脱氧酶。近些年被发现在大多数正常组织中相对低表达或不表达,而在胎盘滋养层细胞和肾上腺细胞中高表达。并且 ASPH 在多种恶性肿瘤组织中过表达,其催化结构域可羟化某些蛋白质 EGF-样结构域中天冬氨酸或天冬酰胺残基,从而介导细胞运动和分化,参与并调节了恶性肿瘤细胞的侵袭及转移,并在免疫调节中可介导抗肿瘤免疫反应。本文简要综述了近些年在肿瘤及其他领域中对 ASPH 的研究进展。

关键词: 天冬酰胺基-β-羟化酶;肿瘤;侵袭;转移;免疫

中图分类号: Q55;R730.231 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)05-975-03

Research Progress of ASPH in Tumors*

WANG Yang, JIANG Ying, NIU Hai-zeng, SHI Yan-hui, CHEN Xue-song[△]

(Affiliated Tumor Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China)

ABSTRACT: ASPH is a highly conserved deoxidizing enzyme of mammalian embryonic period is found in cells. In recent years, it is found in most normal tissues relatively low expression or no expression and high expression in placental trophoblast cells and adrenal cells. And ASPH is over expressed in a variety of malignant tumors, the catalytic domain can be hydroxylated EGF- like domain of certain proteins of aspartic acid or asparagine residues, which mediates cell movement and differentiation, and participate in the regulation of invasion and metastasis of malignant tumor cells, and can induce antitumor immune response in immune regulation. Progress in recent years in the field of cancer and other ASPH research paper briefly reviewed.

Key words: ASPH/AAH; Tumor; Incursion; Metastasis; Immunity

Chinese Library Classification(CLC): Q55; R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)05-975-03

前言

人类天冬酰胺基 β-羟化酶 (Human Aspartyl/Asparaginyl β-hydroxylase, HAAH) 是一种高度保守的脱氧酶^[1],其催化结构域在二价铁存在下羟化某些蛋白质 EGF-样结构域中天冬氨酸或天冬酰胺残基,从而在细胞生长、分化、迁移、粘附和运动中发挥重要的作用^[2,3]。研究表明,ASPH 的过表达与肿瘤的发生、增殖、侵袭及转移密切相关,它可能是体内调节肿瘤细胞生长的重要因子及分子标志物。同时发现 ASPH 基因在 HCC 肿瘤中过度表达,其蛋白从内质网移位至质膜,它成为易进入的胞外环境,可作为肿瘤相关抗原(TAA),并且利用负载 ASPH 的 DCs 对其产生抗肿瘤免疫反应。本文将 ASPH 在肿瘤中的研究进展作一综述。

1 ASPH 的结构与功能

天冬酰胺-(天冬酰胺基)β-羟化酶(Aspartyl/Asparaginyl beta-hydroxylase, ASPH, AAH) 是哺乳动物胚胎期即存在于细

胞内的一种高度保守的脱氧酶。它是分子量约 86 kD 的 2 型跨膜蛋白,属于脯氨酸和赖氨酸羟化酶的α-酮戊二酸依赖性双加氧酶家族的成员^[4,8]。编码完整的 ASPH 基因 DNA 长度为 2277 bp,序列中共有 27 个外显子,该 ASPH 基因编码 4 种蛋白:ASPH, HUMBUG, junctate 和 junctin。所有的 ASPH 编码蛋白由共同的 N-末端外显子编码,而这些相关蛋白的 C-末端的长度和功能不同^[9]。人类 ASPH 蛋白有四个不同的结构域:胞质氨基末端结构域、跨膜结构域、投射到内质网腔中的高负电荷域和羧基端催化结构域。催化结构域负责 ASPH 酶的活性^[3,9]。其在二价铁存在下羟化几种蛋白的某些 EGF-样结构域中天冬氨酸或天冬酰胺残基,介导细胞运动和分化^[2,3,8],在不同的蛋白中这些 EGF-样结构域包含由重复序列构成的保守序列,这类蛋白包括凝血因子、细胞外基质蛋白、低密度脂蛋白受体、Notch 同源物或 Notch 配体同系物^[1-3,8,10]。琥珀酸酯、二氧化碳和 3-羟基天冬氨酸是 ASPH 利用分子氧羟化反应形成的裂解产物^[15,16]。研究证实人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 中 ERK 蛋白激酶、PI3 激酶-Akt 和 CDK-5 通过类胰岛素样生长因子-1

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12541435)

作者简介:王暘(1988-),女,研究生,主要研究方向:血管紧张素在三苯氧胺耐药机制的研究,

电话:18945886456, E-mail: klyang1988@163.com

△ 通讯作者:陈雪松,男,博士,副主任医师,主要研究方向:血管紧张素在三苯氧胺耐药机制的研究,

电话:15804500816, E-mail: 15845306425@163.com

(收稿日期:2016-03-28 接受日期:2016-04-23)

(IGF-1) 和下游信号通路对 ASPH, Humpug 和 Junctin 的表达和定向运动进行调节^[17]。

2 ASPH 的分布及表达调节

ASPH 在大多数正常组织中相对低表达或不表达,而在胎盘滋养层细胞^[10,11]和肾上腺细胞中高表达。并且 ASPH 在肝癌、肝内胆管细胞癌、肺癌、大肠癌、胰腺癌、乳腺癌及神经母细胞瘤组织中过表达^[12], HUI YANG 等证实了在乳腺癌 MCF-7、肝癌 SMMC-7721、子宫颈癌 HeLa 和卵巢癌 SKOV 中表达较高,而在肾腺癌 ACHN、膀胱癌 BIU-87 和喉癌 Hep-2 中表达较低,在正常小鼠胚胎成骨细胞株 MC3T3 中未见表达^[13]。此外,过表达的 ASPH 可以从肿瘤细胞中被释放,呈可溶性或游离状态存在于人血清和体液中^[12,13]。G. Feldmann 等在胆管癌诊断的研究中,发现常规刷检的诊断特异性为 100%,但敏感性仅为 36%,而常规刷检结合 RT-PCR 测定胆管刷检样品标本中 ASPH 和 HoxB7 的 mRNA 的表达可使诊断的敏感性达 82%,特异性为 80%^[14]。胰岛素或 IGF-1 信号通过 Erk 蛋白激酶和 PI3 激酶-Akt 蛋白调节 ASPH mRNA 的表达^[18,19]。ASPH 蛋白的过表达能够抑制糖原合成酶激酶-3 (GSK-3) 的活性,而它的 mRNA 无此作用。M. Chiara 通过对 15 例肝癌样本和 15 例无肝癌细胞的肝活检标本采用实时定量 RT-PCR 和 Western blot 分析 ASPH 的 mRNA 转录水平与胰岛素受体底物 (IRS)、胰岛素和 IGF 受体以及 Notch, Jagged 和 HES 是相关的。活化 IGF-1 和 IGF-2 信号导致 ASPH 和 Notch 的过表达。ASPH 相对于细胞运动功能的作用已被证实与 Notch 信号通路的活化增加有关^[20]。

3 ASPH 在肿瘤中的作用机制

3.1 ASPH 在肿瘤细胞侵袭转移中的作用

ASPH 过表达产生的恶性表型的特点是促进细胞运动和侵袭^[6]。Peter SolMe 识别了对顺铂耐药的人卵巢癌细胞系 CP70、C200 和对顺铂敏感的 A2780 细胞系差异表达的基因共 17 个,这 17 个基因在 A2780 细胞系中几乎无法检测到,并且其中包括 ASPH 在内的 7 个基因为高度表达,同时对这些基因进行了鉴定,证实了这些基因及其产物在 CDDP 耐药的卵巢癌中的生物学意义^[21]。同样,Hee-Jung Yoo 建立 4 种人胆管癌(CC)细胞系,包括典型肉瘤样表型 SCK、低分化 JCK1、中分化 Cho-CK 和高分化 Choi-CK,并且在 SCK 肉瘤细胞和高分化 Choi-CK 细胞之间的表达模式的比较中确定了显著过表达的 260 个基因和低表达的 247 个基因。通过 Northern 印迹和免疫组化验证了 14 个过表达的基因,其中包括 ASPH^[27]。Kui Wang 的研究表明与癌旁组织相比,肝癌中 ASPH 的表达增强,这与肝癌细胞分化较差有关,因此 ASPH 表达是一个独立的影响复发因素^[22]。ASPH 的高表达也预测了肝内转移,而较低水平蛋白的检测与更多差异化的肿瘤表型相关^[23]。Wands 等发现肝癌中 ASPH 高表达显著增加肝癌细胞株 HepG2 和 Huh-7 细胞的侵袭。ASPH 显现的过表达程度与肿瘤大小、浸润性生长方式、组织学分级、血管侵犯及较差生存率相关联^[23-25]。ASPH 过表达可促进胆管上皮细胞的恶性转化,促进细胞运动,有助于胆管癌细胞的浸润性生长。

3.2 ASPH 介导抗肿瘤免疫反应

ASPH 基因在 HCC 肿瘤中过度表达并且其蛋白从内质网移位至质膜,它成为易进入的胞外环境,可作为肿瘤相关抗原 (TAA),利用负载 ASPH 的 DCs 产生抗肿瘤免疫反应^[22]。利用表达 ASPH 的小鼠 SP2-0 骨髓瘤细胞系作为靶细胞获得类似的抗肿瘤反应。Suzanne M. 用 HIRS-DC 过表达 ASPH 的 FOCUS 细胞后,细胞运动和侵袭力均降低,用抑制 ASPH 的 siRNA 的表达显著减少了 FOCUS 细胞的定向运动^[19]。Masafumi Shimoda 发现 ASPH 刺激能够导致抗原特异性 CD4⁺T 细胞的显著增长,利用被 ASPH-DC 免疫的小鼠的脾细胞,通过 ASPH 蛋白再刺激表现出较高水平的 IFN γ 的分泌和颗粒酶 B 和 CD8⁺ 细胞的增加,并且在手术切除的肝癌中,ASPH-DC 免疫治疗可能延缓其复发^[26]。Takehiro Noda 同样也证实了在体外 ASPH 加载的 DC 免疫产生的细胞毒性可对抗胆管癌细胞并且显著抑制其肝内肿瘤生长和转移。Y.A. Yeung 利用在 scFv 文库中分离得到的针对 ASPH 的 12 个单链 Fv 抗体片段,重新格式化为人类的 IgG1,而其中的两个 IgG(6-22 和 6-23)在肿瘤细胞株和肿瘤组织中表现出与重组 ASPH 的显著结合。重组 IgG 6-22 表现出其内化作用进入肿瘤细胞,因此可以被用来递送抗体的细胞毒性部分^[27]。

4 结语

天冬氨酸-(天冬酰胺酰基)-羟化酶的羧基端催化结构域可羟化几种蛋白的 EGF-样结构域中天冬氨酸或天冬酰胺残基,介导细胞运动和分化。其相对于细胞运动功能的作用已被证实与 Notch 信号通路的活化增加有关。且胰岛素或 IGF-1 信号通过 Erk 蛋白激酶和 PI3 激酶-Akt 蛋白调节 ASPH mRNA 的表达。ASPH 表达是一个独立的影响复发因素。可利用负载 ASPH 的 DCs 产生抗肿瘤免疫反应,使细胞运动和侵袭力均降低,因此 ASPH-DC 免疫治疗可能延缓复发。

综上所述,人类天冬氨酸基-羟化酶在多种肿瘤细胞中过表达,并且与肿瘤的进展相关,ASPH 可能会成为治疗的靶点及分子标记物。

参考文献(References)

- [1] Ince N, de la Monte SM, Wands JR. Overexpression of human aspartyl (asparaginyl) beta-hydroxylase is associated with malignant transformation[J]. Cancer Res, 2000, 60(5): 1261-1266
- [2] Dinchuk JE, Focht RJ, Kelley JA, et al. Absence of post-translational aspartyl beta-hydroxylation of epidermal growth factor domains in mice leads to developmental defects and an increased incidence of intestinal neoplasia[J]. J Biol Chem, 2002, 277(15): 12970-12977
- [3] Dinchuk JE, Henderson NL, Burn TC, et al. Aspartyl beta-hydroxylase (Asph) and an evolutionarily conserved isoform of Asph missing the catalytic domain share exons with juncin[J]. J Biol Chem, 2000, 275(50): 39543-39554
- [4] Shimizu K, Chiba S, Kumano K, et al. Mouse jagged1 physically interacts with notch2 and other notch receptors. Assessment by quantitative methods[J]. J Biol Chem, 1999, 274(46): 32961-32969
- [5] Zimrin AB, Pepper MS, McMahon GA, et al. An antisense oligonucleotide to the notch ligand jagged enhances fibroblast growth factor-induced angiogenesis in vitro [J]. J Biol Chem, 1996, 271(51): 32499-32502

- [6] McGinnis K, Ku GM, VanDusen WJ, et al. Site-directed mutagenesis of residues in a conserved region of bovine aspartyl (asparaginyl) beta-hydroxylase: evidence that histidine 675 has a role in binding Fe 21 [J]. *Biochemistry*, 1996, 35(13): 39571
- [7] Wands JR, Lavaissiere L, Moradpour D, et al. Immunological approach to hepatocellular carcinoma [J]. *J Viral Hepat*, 1997, 4(Suppl 2): S60-S74
- [8] Ho SP, Scully MS, Krauthauser CM, et al. Antisense oligonucleotides selectively regulate aspartyl beta-hydroxylase and its truncated protein isoform in vitro but distribute poorly into A549 tumors in vivo[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 302(2): 795-803
- [9] Treves S, Feriotto G, Moccagatta L, et al. Molecular cloning, expression, functional characterization, chromosomal localization, and gene structure of juncate, a novel integral calcium binding protein of sarco (endo) plasmic reticulum membrane[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275 (50): 39555-39568
- [10] Lavaissiere L, Jia S, Nishiyama M, et al. Overexpression of human aspartyl (asparaginyl)beta-hydroxylase in hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma[J]. *J Clin Invest*, 1996, 98(6): 1313-1323
- [11] Gundogan F, Elwood G, Greco D, et al. Role of aspartyl-(asparaginyl) beta-hydroxylase in placental implantation: Relevance to early pregnancy loss[J]. *Hum Pathol*, 2007, 38(1): 50-59
- [12] Tao Xue, Xiao-ping Xue, Qing-sheng Huang, et al. Monoclonal Antibodies Against Human Aspartyl (Asparaginyl) beta-Hydroxylase Developed by DNA Immunization [J]. *Original Article*, 2009, 28 (4): 251-257
- [13] Yang Hui , Song Kai, Xue Tian, et al. The distribution and expression profiles of human Aspartyl/Asparaginyl beta-hydroxylase in tumor cell lines and human tissues [J]. *Oncology reports*, 2010, 24 (5): 1257-1264
- [14] Feldmann G, Nattermann J, Nischalke HD, et al. Detection of human aspartyl (asparaginyl) beta-hydroxylase and homeobox B7 mRNA in brush cytology specimens from patients with bile duct cancer [J]. *Endoscopy*, 2006, 38(6): 604-609
- [15] Sepe PS, Lahousse SA, Gemelli B, et al. Role of the aspartyl-asparaginyl beta-hydroxylase gene in neuroblastoma cell motility [J]. *Lab Invest*, 2002, 82(7): 881
- [16] Maeda T, Sepe P, Lahousse S, et al. Antisense oligodeoxynucleotides directed against aspartyl (asparaginyl) beta-hydroxylase suppress migration of cholangiocarcinoma cells[J]. *J Hepatol*, 2003, 38(5): 615 T
- [17] Lahousse SA, Carter JJ, Xu XJ, et al. Differential growth factor regulation of aspartyl- (asparaginyl)-beta-hydroxylase family genes in SH-Sy5y human neuroblastoma cells[J]. *BMC Cell Biol*, 2006, 7: 41
- [18] Carter JJ, Tong M, Silbermann E, et al. Ethanol impaired neuronal migration is associated with reduced aspartyl-asparaginyl-beta-hydroxylase expression[J]. *Acta Neuropathol*, 2008, 116(3): 303-315
- [19] De la Monte SM, Tamaki S, Cantarini MC, et al. Aspartyl-(asparaginyl)-beta-hydroxylase regulates hepatocellular carcinoma invasiveness[J]. *J Hepatol*, 2006, 44(5): 971-983
- [20] Cantarini MC, de la Monte SM, Pang M, et al. Aspartyl-asparaginyl beta hydroxylase over-expression in human hepatoma is linked to activation of insulin-like growth factor and notch signaling mechanisms[J]. *Hepatology*, 2006, 44(2): 446-457
- [21] Wang K, Liu J, Yan ZL, et al. Overexpression of aspartyl- (asparaginyl)-beta-hydroxylase in hepatocellular carcinoma is associated with worse surgical outcome[J]. *Hepatology*, 2010, 52(1): 164
- [22] Shimoda M, Tomimaru Y, Charpentier K.P, et al. Tumor progression-related transmembrane protein aspartate-b-hydroxylase is a target for immunotherapy of hepatocellular carcinoma [J]. *Journal hepatology*, 2012, 56(5): 1129-1135
- [23] Noda T, Shimoda M, Ortiz V, et al. Immunization with Aspartate-b-Hydroxylaseansmembrane protein aspartate-b-hydroxylase is a target for immunotherapy of heic Cholangiocarcinoma[J]. *Hepatobiliary malignancies*, 2012, 55(1): 86-97
- [24] Yeung YA, Finney AH, Koyrakh IA, et al. Isolation and characterization of human antibodies targeting human aspartyl (asparaginyl) beta-hydroxylase[J]. *Hum Antibodies*, 2007,16(3-4): 163-176
- [25] Maeda T, Taguchi K, Aishima S, et al. Clinicopathological correlates of aspartyl (asparaginyl) beta-hydroxylase over-expression in cholangiocarcinoma[J]. *Cancer Detect Prev*, 2004, 28(5): 313-318
- [26] Solar P, Sytkowski AJ. Differentially expressed genes associated with cisplatin resistance in human ovarian adenocarcinoma cell line A2780 [J]. *Cancer Lett*, 2011, 309(1): 11-18
- [27] Yoo HJ, Yun BR, Kwon JH, et al. Genetic and expression alterations in association with the sarcomatous change of cholangiocarcinoma cells[J]. *Exp Mol Med*, 2009, 41(2): 102-115

(上接第 939 页)

- [14] Whalen D, Harty C, Ravalia M, et al. Helicopter Evacuation Following a Rural Trauma: An Emergency Medicine Simulation Scenario Using Innovative Simulation Technology[J]. *Cureus*, 2016, 8(3): e524
- [15] Valenzuela Espinoza A, De Smedt A, Guldolf K, et al. Opinions and Beliefs About Telemedicine for Emergency Treatment During Ambulance Transportation and for Chronic Care at Home[J]. *Interact J Med Res*, 2016, 5(1): e9
- [16] Gay JL, Robb SW, Benson KM, et al. Can the Social Vulnerability Index Be Used for More Than Emergency Preparedness? An Examination Using Youth Physical Fitness Data[J]. *J Phys Act Health*, 2016, 13(2): 121-130
- [17] Young SK, Tabish TB, Pollock NJ, et al. Backcountry Travel Emergencies in Arctic Canada: A Pilot Study in Public Health Surveillance [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2016, 13(3): 276
- [18] Bhalla MC, Frey J, Dials S, et al. Outcomes of non-STEMI patients transported by emergency medical services vs private vehicle[J]. *Am J Emerg Med*, 2016, 34(3): 531-535
- [19] Boyd DD, Macchiarella ND. Occupant Injury Severity and Accident Causes in Helicopter Emergency Medical Services (1983-2014)[J]. *Aerosp Med Hum Perform*, 2016, 87(1): 26-31
- [20] Ferguson S. Transporting babies in an emergency[J]. *Nurs N Z*, 2016, 22(4): 16-17