

· 论 著 ·

## UPP 对匹罗卡品致痫大鼠 PSD95/NR2B 表达的影响

张 杰<sup>1</sup>, 陈阳美<sup>2△</sup>

(1. 重庆三峡中心医院神经内科, 万州 404000; 2. 重庆医科大学附属第二医院神经内科 400010)

**摘要:**目的 研究泛素-蛋白酶体途径(UPP)对匹罗卡品致痫大鼠海马突触后致密物质-95(PSD95)/N-甲基-D-天(门)冬氨酸 2B 受体(NR2B)表达的影响及其在癫痫发生和发展中的作用。方法 用免疫荧光方法检测匹罗卡品致痫大鼠及经 UPP 抑制剂(MG-132)预处理大鼠海马 PSD95/NR2B 的表达,并观察组织病理学变化。结果 MG-132 能明显抑制匹罗卡品致痫大鼠海马 PSD95/NR2B 表达下调,并且明显加重致痫大鼠海马神经元损伤。结论 UPP 能调控匹罗卡品致痫大鼠海马 PSD95/NR2B 的表达。

**关键词:**泛素-蛋白酶体途径;突触后致密物质-95;N-甲基-D-天(门)冬氨酸 2B 受体;癫痫

**中图分类号:**R365.742

**文献标识码:**A

**文章编号:**1671-8348(2010)04-0397-04

## Effects of UPP on PSD95/NR2B expression in rats with pilocarpine-induced epilepsy

ZHANG Jie<sup>1</sup>, CHEN Yang-mei<sup>2△</sup>

(1. Department of Neurology, Chongqing Three Gorges Central Hospital, Wanzhou District, Chongqing 404000, China;

2. Department of Neurology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression and the potential role of PSD95/NR2B on epileptogenesis in hippocampus of rats with epilepsy and to explore the effect of Ubiquitin-proteasome pathway (UPP) on the expression of PSD95/NR2B of epileptic rats. **Methods** The expression of PSD95/NR2B in hippocampus was examined by the immunofluorescent analysis. Used histopathological stain to detect morphological changes in hippocampus. **Results** The expression of PSD95/NR2B was gradually decreased in hippocampus of pilocarpine-induced epileptic rats. The down-regulation of PSD95/NR2B expression in hippocampus had been inhibited in the MG-132 pretreated rats ( $P < 0.05$ , vs PILO group) and the degeneration and necrosis of neurons were more severe compared with epileptic rats. **Conclusion** Ubiquitin-proteasome pathway plays an important role in the down-regulation of PSD95/NR2B expression in hippocampus of epileptic rats. The down-regulation of PSD95/NR2B expression is considered to be a protective mechanism in epileptogenesis.

**Key words:** ubiquitin-proteasome pathway; postsynaptic density-95; NR2B; epilepsy

突触后致密物质-95(postsynaptic density-95, PSD95)是在兴奋性突触的突触后致密物中纯化鉴定出的一种与 N-甲基-D-天(门)冬氨酸(NMDA)受体结合的支架蛋白,与 NMDA 受体 2B 亚单位(N-methyl-D-aspartic acid receptor 2B, NR2B)结合最为紧密,同时又结合了 NMDA 受体信号通路中的一系列相关分子,使信号分子、调节分子和靶分子有机地整合于突触后膜,在介导和整合突触信号传递中发挥重要作用。有研究表明癫痫发作可以导致脑内 PSD95/NR2B 表达下调,但 PSD95/NR2B 蛋白表达下调的机制及在癫痫发生和发展中的作用尚不清楚。本研究应用泛素-蛋白酶体途径(ubiquitin-proteasome pathway, UPP)抑制剂(MG-132)对匹罗卡品致痫大鼠进行干预,观察模型组和预处理组大鼠海马 PSD95/NR2B 表达的变化,旨在探讨 UPP 对匹罗卡品致痫大鼠 PSD95/NR2B 表达的影响及其在癫痫发生中的作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物分组** 健康雄性 Wistar 大鼠 78 只,体重 180~220g(重庆医科大学实验动物中心提供),随机分为 3 组:对照组 6 只,模型组 36 只,预处理组 36 只。模型组和预处理组根据致痫后 3、6、12、24h 及 7、14d 等 6 个时间点随机分为 6 个亚组。

**1.2 模型构建及行为学观察** 模型组和预处理组动物腹腔注射 LiCl(美国 Alexis 公司生产)3mEq/kg, 18h 后腹腔注射盐

酸 PILO(美国 Alexis 公司生产)40mg/kg;预处理组在注射盐酸 PILO 前 0.5h 腹腔注射 MG-132(Biomol 公司生产)2mg/kg,模型组用生理盐水替代;对照组在以上相应时间点注射等量生理盐水。行为学观察按 Racine 分级标准:0 级,正常行为状态;I 级,面肌抽动;II 级,节律性点头;III 级,单侧前肢阵挛;IV 级,双前肢阵挛伴站立;V 级,持续站立,失去平衡、跌倒。在注射盐酸 PILO 后 2h 内有 3 次 III~V 级发作或 1 次 III 级以上发作持续 30min 为致痫成功。

**1.3 脑组织切片制备** 各组动物在相应时间点用 3.5%水合氯醛(0.1mL/kg)腹腔注射麻醉后,开胸暴露心脏,升主动脉插管,切开右心耳,以 100mL 温生理盐水快速灌注,直至肝脏变色,右心耳流出无色液体。再灌注 4%冷多聚甲醛磷酸缓冲液约 200mL 进行灌流固定,直至肝脏、四肢、尾变硬(约 20~30min)。取含海马结构的 2~3mm 厚脑块(冠状切面),置于 4℃ 上述同样固定液中固定,石蜡包埋后作连续冠状切片,片厚 5μm,贴于经多聚赖氨酸处理的载玻片上。

**1.4 组织病理学观察** 石蜡切片经常规 HE 染色,光学显微镜下观察各组大鼠海马各区组织病理学变化,并随机取 CA1、CA3、齿状回颗粒细胞区 3 个不连续高倍镜下(×400)计数总神经细胞和残存正常神经细胞数量,计算出平均每个视野总神经细胞和残存正常神经细胞数量。

△ 通讯作者, E-mail: chenym@cqnc.com。

**1.5 免疫荧光检测** 石蜡切片依次脱蜡至水,抗原热修复,PBS漂洗,0.3% TritonX-100 中室温孵育 15min,PBS 洗涤 3min×3 次,用正常山羊封闭血清封闭 20min,倾去血清,勿洗,滴加适当比例稀释的一抗(兔抗鼠 PSD95 多克隆抗体 1:50,兔抗鼠 NR2B 多克隆抗体 1:100),4℃过夜,PBS 漂洗 3min×3 次,接着滴加标记 TRITC 的山羊抗兔 IgG(1:50,北京中杉金桥生物技术有限公司生产),室温 2h,PBS 洗涤 3min×3 次,甘油封片,直接在激光共聚焦显微镜下观察、拍照并测定荧光强度。

**1.6 统计学方法** 每只动物每个指标取 4 张切片,用激光扫描共聚焦显微镜扫描成像,用 Image Pro Plus (IPP),Version 5.0 图像分析软件测定海马各区神经元胞浆的荧光强度,取平均值,所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS10.0 统计软件分析,两组间比较用 *t* 检验,两样本率的比较用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 行为学观察** 腹腔注射盐酸 PILO 5~10min 后出现活动减少、凝视、流涎、血泪、抖须、咀嚼、面部抽搐、双前肢交替阵挛抽搐,20~60min 后出现湿狗样抖动、全身强直阵挛抽搐伴站立或跌倒,站立发作后多数动物按某一固定方向在原地转圈。发作停止后成萎靡状,活动减少,不饮,不食。模型组 72.22%(26/36)动物发展为癫痫持续状态(SE)并存活,死亡率为 19.44%;69.44%(25/36)大鼠达到 V 级发作,平均潜伏期为(36.36±5.58)min;预处理组 63.89%(23/36)动物发展为 SE 并存活(与模型组比较差异无统计学意义),死亡率为 33.33%(死亡率有所上升,但与模型组比较差异无统计学意义),91.67%(33/36)动物达到 V 级发作,与模型组比较,差异

有统计学意义( $P < 0.05$ ),平均潜伏期为(27.27±5.04)min,与模型组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );对照组无痫性发作,见表 1。

**表 1 模型组和预处理组大鼠行为学改变情况比较**

组别	潜伏期 (min, $\bar{x} \pm s$ )	成功率 (%)	V 级发生率 (%)	死亡率 (%)
模型组	36.36±5.58	72.22	69.44	19.44
预处理组	27.27±5.04*	63.89	91.67*	33.33

\*:与模型组比较, $P < 0.05$ 。

**表 2 各组平均每个视野海马各区锥体细胞层神经细胞数测定结果比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	总神经细胞数	残存正常神经细胞数	变性、坏死神经细胞数
对照组	52.00±0.81	51.00±1.1	1.00±0.3
模型组	38.00±1.25*	15.00±0.5*	23.00±0.72*
预处理组	27.00±0.73*△	5.00±0.62*△	22.00±0.91*△

\*:与对照组比较, $P < 0.05$ ;△:与模型组比较, $P < 0.05$ 。

**2.2 组织病理学观察** 光镜下对照组海马各区神经元排列整齐,形态完整。模型组大鼠致痫 6h 后,海马 CA1、CA3 及齿状回门区神经元失去正常结构,排列疏松,细胞间隙增大,可见到变性、坏死细胞,但细胞脱失轻微;致痫 24h 后,组织结构损伤加重,细胞脱失更加明显,与对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );预处理组大鼠神经元变性、坏死更为明显,细胞脱失更加严重,与对照组和模型组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

**表 3 各组海马各区 PSD95 蛋白表达(荧光强度,  $\bar{x} \pm s$ )**

时间	CA1			CA3			齿状回颗粒细胞区(DG)		
	对照组	模型组	预处理组	对照组	模型组	预处理组	对照组	模型组	预处理组
SE 前	51.16±3.64	—	—	51.63±3.78	—	—	46.28±3.47	—	—
SE 后									
3h	—	49.42±3.24	49.87±3.36	—	48.56±3.4	51.24±3.32	—	44.24±3.31	45.86±3.26
6h	—	35.34±3.31*	50.32±3.14△	—	36.99±3.05*	50.21±3.51△	—	34.81±3.24*	45.27±3.23△
12h	—	28.36±3.12*	50.43±3.41△	—	27.68±3.15*	49.52±3.27△	—	24.27±2.82*	44.78±3.31△
24h	—	20.43±2.74*	49.86±3.38△	—	20.37±2.10*	49.76±3.53△	—	18.62±3.16*	46.24±2.86△
7d	—	50.71±2.46	50.61±3.13	—	49.11±2.83	51.27±3.32	—	44.30±3.24	45.59±3.32
14d	—	50.89±3.04	51.32±3.32	—	49.99±2.30	50.87±3.27	—	44.52±2.37	44.95±3.28

\*:与对照组相应脑区比较, $P < 0.05$ ;△:与模型组相应脑区比较, $P < 0.05$ ;—:表示无此项。

**表 4 各组海马各区 NR2B 蛋白表达(荧光强度,  $\bar{x} \pm s$ )**

时间	CA1			CA3			DG		
	对照组	模型组	预处理组	对照组	模型组	预处理组	对照组	模型组	预处理组
SE 前	81.57±4.21	—	—	79.4±4.78	—	—	64.71±5.03	—	—
SE 后									
3h	—	78.86±5.02	80.64±4.24	—	77.73±3.71	78.24±4.42	—	61.82±4.46	64.37±5.32
6h	—	69.45±4.62*	79.26±4.41△	—	65.15±5.15*	79.28±4.34△	—	56.56±4.38*	65.28±4.36△
12h	—	44.37±4.24*	81.46±5.22△	—	42.84±5.00*	77.62±5.15△	—	37.68±5.21*	63.62±4.32△

\*:与对照组相应脑区比较, $P < 0.05$ ;△:与模型组相应脑区比较, $P < 0.05$ ;—:表示无此项。

续表 4 各组海马各区 NR2B 蛋白表达(荧光强度,  $\bar{x} \pm s$ )

时间	CA1			CA3			DG		
	对照组	模型组	预处理组	对照组	模型组	预处理组	对照组	模型组	预处理组
24h	—	33.53±5.15*	80.25±4.31 <sup>△</sup>	—	32.65±5.26*	76.85±4.24 <sup>△</sup>	—	30.37±4.63*	63.56±5.14 <sup>△</sup>
7d	—	79.16±4.85	79.43±5.12	—	76.46±5.82	80.65±5.35	—	62.30±4.34	65.47±4.12
14d	—	79.36±4.38	80.52±4.31	—	76.9±4.72	78.43±4.61	—	62.22±5.12	64.65±5.24

\*:与对照组相应脑区比较,  $P < 0.05$ ; <sup>△</sup>:与模型组相应脑区比较,  $P < 0.05$ ; —:表示无此项。

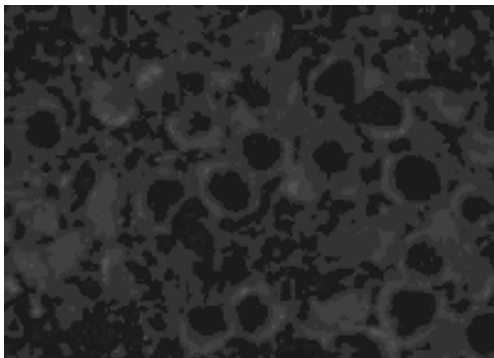


图 1 对照组大鼠海马 CA3 区 PSD95 免疫荧光染色( $\times 1\ 000$ )

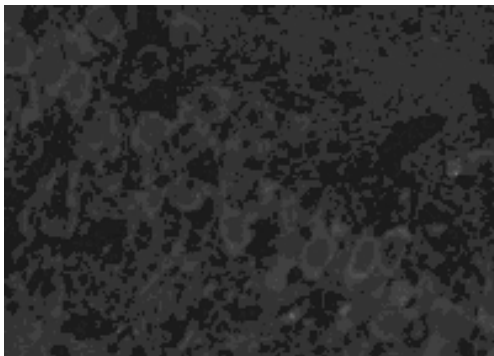


图 2 对照组大鼠海马 CA3 区 NR2B 免疫荧光染色( $\times 1\ 000$ )



图 3 SE24h 大鼠海马 CA3 区 PSD95 免疫荧光染色( $\times 1\ 000$ )

相应时间点模型组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 海马各区 PSD95/NR2B 的表达与对照组比较无差别, 见表 3、4。



图 4 SE24h 大鼠海马 CA3 区 NR2B 免疫荧光染色( $\times 1\ 000$ )



图 5 预处理 24h 大鼠海马 CA3 区 PSD95 免疫荧光染色( $\times 1\ 000$ )



图 6 预处理 24h 大鼠海马 CA3 区 NR2B 免疫荧光染色( $\times 1\ 000$ )

**2.3 PSD95 和 NR2B 蛋白的表达** PSD95/NR2B 在对照组大鼠海马各区表达广泛(图 1、2), 呈红色免疫荧光反应; 致痫后 PSD95/NR2B 在海马各区的表达逐渐减少, 24h 降至低谷(图 3、4), 与对照组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 7d 已基本恢复至正常水平; 预处理组明显阻止致痫大鼠海马各区 PSD95/NR2B 蛋白的表达下调(图 5、6), 致痫后 6、12、24h 与

### 3 讨 论

突触后致密物(postsynaptic density, PSD)是位于中枢神经系统突触后膜下的高电子密度特化区, 主要由谷氨酸受体及多种介导和调控谷氨酸信号传递的信号分子组成<sup>[1-2]</sup>, 在介导

和整合突触信号传递中发挥重要作用,是神经信息传递的重要结构基础。近年的研究表明 PSD 是一个动态的结构<sup>[3]</sup>,密切参与突触功能的调节和突触后神经元对兴奋性刺激反应的调控,还可能参与了癫痫神经元突触可塑性反应。

PSD95 是 PSD 的一个主要蛋白成分,与多条信号通路密切相关:(1) PSD95 参与神经元型一氧化氮合酶(nNOS)的选择性激活<sup>[4]</sup>, NR2B- PSD95-nNOS 形成三元复合物,为 nNOS 选择性地被 NMDA 受体介导的  $Ca^{2+}$  内流所激活提供了反应平台,一氧化氮(NO)合成增加与癫痫发作时海马神经元的毒性损害密切相关<sup>[5]</sup>;(2) PSD95 参与突触 Ras-GTP 酶活化蛋白(SynGAP)磷酸化灭活, PSD95 的 3 个 PDZ 结构域都可与 SynGAP 结合,并使其串集于 NMDA 受体, NMDA 受体介导的  $Ca^{2+}$  内流,激活钙/钙调素依赖的蛋白激酶 II (CaMK II), CaMK II 磷酸化 SynGAP 并抑制其活性,这时 Ras 蛋白与 GTP 结合变为活化形式的 Ras-GTP,从而启动丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号途径<sup>[6-7]</sup>,参与致痫后神经元变性坏死过程及苔藓纤维出芽的形成<sup>[8-10]</sup>;(3) PSD95 介导 NR2 的磷酸化作用, PSD95 参与非受体酪氨酸蛋白激酶(Src, Fyn 等)对 NR2 的磷酸化作用,明显增强 NMDA 受体通道的功能,不仅参与生理条件下长时程增强(LTP)的调节,还介导了病理条件下的谷氨酸兴奋毒性,加重细胞损伤<sup>[11-12]</sup>。

本研究结果显示,癫痫发作急性期 PSD95/NR2B 蛋白表达下调,与 Wyneken 等<sup>[13]</sup>研究结果一致。 PSD95/NR2B 蛋白表达下调有利于削弱上述谷氨酸兴奋性通路的过度激活,减轻谷氨酸兴奋毒性对海马神经元造成的损害,在致痫后启动自身保护性机制,在抑制了 PSD95/NR2B 蛋白表达下调后,癫痫大鼠行为学及病理学改变也支持这种观点,潜伏期由  $(36.36 \pm 5.58)$  min 缩短至  $(27.27 \pm 5.04)$  min ( $P < 0.05$ ),达到 V 级发作的发生率明显提高 ( $P < 0.05$ ),死亡率也有所上升(但差异无统计学意义),神经病理损害明显加重。

UPP 是生物体内蛋白质选择性降解的重要途径之一,其可清除细胞中突变、损伤和异常折叠的蛋白质,起到维持细胞内、外环境稳定的作用。蛋白酶体的天然底物是多聚泛素化蛋白,催化降解多聚泛素化蛋白的酶形式是 26S 蛋白酶体,其是在 ATP 依赖性的酶催化过程中,由 1 个 20S 蛋白酶体和 2 个 19S 调控复合物结合而成的。UPP 的作用机制为首先靶蛋白在 ATP 参与下被泛素标记,然后泛素化的靶蛋白被 19S 调节复合体识别后,运至 20S 蛋白酶体的催化中心被降解<sup>[14-15]</sup>。

本研究中使用的 MG-132 能抑制靶蛋白泛素化,从而阻断靶蛋白进入蛋白酶体降解。预处理组大鼠海马没有观察到 PSD95 和 NR2B 蛋白表达下调。 Ehlers<sup>[16]</sup>通过神经元培养技术,用河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)抑制了突触活动后,发现 PSD 蛋白质泛素化水平明显降低,而用荷包牡丹碱(bicuculline)增强突触活动后,泛素化 PSD 蛋白质含量提高了 2 倍。3 种蛋白酶体抑制剂(MG-132, lactacystin 和 epoxomicin)都能抑制荷包牡丹碱引起的 PSD 蛋白质泛素化水平。推测 UPP 可能参与了致痫大鼠 PSD95/NR2B 表达下调。

Simpkins 等<sup>[17]</sup>通过海马神经元培养技术研究发现钙蛋白酶(calpain)能水解掉 NR2B 的 C 末端,得到 1 个相对分子质量为  $115 \times 10^3$  的多肽片段。 Araujo 等<sup>[18]</sup>在海人酸诱导的癫痫持续状态模型中也发现钙蛋白酶活性明显增强,同时他们还用 Western blot 法检测到 NR2B 的  $115 \times 10^3$  片段。因此作者推测,这种异常 NR2B 片段的产生可能成为启动 UPP 通路降解

NR2B 的原因。

综上所述,本研究结果显示,致痫后急性期海马各区和齿状回的 PSD95/NR2B 表达下调,并通过行为学及形态学改变证实了这种变化是一种对脑内神经元过度兴奋的适应性内源性保护机制;而 UPP 可能参与了痫性发作时 PSD95/NR2B 的表达下调,但 PSD95/NR2B 进入 UPP 的确切机制尚需进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Yoshimura Y, Yamauchi Y, Shinkawa T, et al. Molecular constituents of the postsynaptic density fraction revealed by proteomic analysis using multidimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Neurochem*, 2004, 88(3):759.
- [2] Sharma K, Fong DK, Craig AM. Postsynaptic protein mobility in dendritic spines; long-term regulation by synaptic NMDA receptor activation[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2006, 31(4):702.
- [3] Barak O, Tsodyks M. Persistent activity in neural networks with dynamic synapses[J]. *PLoS Comput Biol*, 2007, 3(2):e35.
- [4] Yan XB, Song B, Zhang GY. Postsynaptic density protein 95 mediates  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II-activated serine phosphorylation of neuronal nitric oxide synthase during brain ischemia in rat hippocampus[J]. *Neurosci Lett*, 2004, 355(3):197.
- [5] Kato N, Sato S, Yokoyama H, et al. Sequential changes of nitric oxide levels in the temporal lobes of kainic acid-treated mice following application of nitric oxide synthase inhibitors and Phenobarbital[J]. *Epilepsy Research*, 2005, 65(1-2):81.
- [6] Komiyama NH, Watabe AM, Carlisle HJ, et al. SynGAP Regulates ERK/MAPK signaling, synaptic plasticity, and learning in the complex with postsynaptic density 95 and NMDA receptor[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2002, 22(22):9721.
- [7] Song B, Yan XB, Zhang GY. PSD95 promotes CaMK II-catalyzed serine phosphorylation of the synaptic RAS-GTPase activating protein SynGAP after transient brain ischemia in rat hippocampus[J]. *Brain Res*, 2004, 1005(1-2):44.
- [8] 刘华, 陈阳美. 细胞外信号调节激酶在癫痫中的作用[J]. *重庆医学*, 2007, 36(16):1660.
- [9] Otani N, Nawashiro H, Yano A, et al. Characteristic phosphorylation of the extracellular signal-regulated kinase pathway after kainate-induced seizures in the rat hippocampus[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2003, 86:571.
- [10] 郑丽华. ERK1/2 信号转导通路在匹罗卡品致痫鼠苔藓纤维出芽中的作用[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2007, 33(2):120.
- [11] Hou XY, Zhang GY, Yan JZ, et al. Activation of NMDA receptors and L-type voltage-gated calcium channels mediates enhanced formation of Fyn-PSD95-(下转第 402 页)

### 3 讨 论

子宫内膜癌为女性生殖道恶性肿瘤之一,占女性生殖道恶性肿瘤的 20%~30%。近年来发病率在世界范围内呈上升趋势,严重威胁妇女健康。目前子宫内膜癌发病机制尚不完全清楚,因此研究子宫内膜癌的发病机制具有重要意义<sup>[4]</sup>。

人 Annexin II 的结构基因位于 15q21-q22,含 1.4kb 编码基因,有 13 个外显子和 12 个内含子,由 339 个氨基酸残基组成,具有钙离子介导磷脂结合的特性,其主要生物学功能为:(1)促进 DNA 的合成和细胞的增殖;(2)促进肿瘤的侵袭及转移;(3)参与抗凋亡。Ito 等<sup>[5]</sup>研究发现 Annexin II mRNA 在无 RET 原癌基因突变的甲状腺髓样癌中过高表达,而在正常的甲状腺中无表达;Annexin II 在正常滤泡上皮及滤泡性腺瘤中无表达,在滤泡性甲状腺癌、乳头状癌、未分化癌中表达升高。Sharma 等<sup>[6]</sup>发现 Annexin II 在正常和增生的乳腺导管上皮中无表达,在乳腺浸润性导管癌和乳腺导管原位癌中有表达,提示 Annexin II 对肿瘤的发生有密切关系。本研究采用免疫组化对 86 例子宫内膜癌组织进行检测,结果显示子宫内膜癌组织中 Annexin II 蛋白表达阳性率为 68.6%,正常子宫内膜组织 Annexin II 蛋白表达阳性率为 36.7%,差异有统计学意义,说明 Annexin II 可能对子宫内膜癌发生发展起重要作用。

Hayes 等<sup>[7]</sup>研究发现具有迁移能力细胞的突触中起高浓度的 Annexin II 的聚集,利用 siRNA 干扰技术使突触中的 Annexin II 表达降低时,可导致应力纤维的聚集,以及突触伸缩运动的丧失,提示 Annexin II 在肿瘤细胞的迁移中起重要作用。Pei 等<sup>[8]</sup>利用组织芯片技术发现 Annexin II 在有淋巴结转移的结肠癌中的表达较未发生淋巴结转移的结肠癌的表达升高,提示 Annexin II 升高可以作为结肠癌预后的指标。本研究发现 Annexin II 与有无淋巴结转移、病理分级及临床分期有相关性,与病理组织类型无相关性,说明 Annexin II 可能对子宫内膜癌生长转移起重要作用,分析其机制可能是肿瘤细胞表面已有组织蛋白酶 B 与 Annexin II 四聚体相互作用,通过 Annexin II 使以上多种蛋白酶及其底物在肿瘤细胞表面共区域化,促进激活蛋白酶前体启动蛋白水解级联反应;选择性降解细胞外基质蛋白,从而导致肿瘤细胞从原发肿瘤脱离并迁移,侵犯局部组织;激活并生成的纤溶酶,降解细胞外基质,促进肿瘤细胞浸润和

转移。

综上所述,Annexin II 可能对子宫内膜癌生长转移起重要作用,同时也可能是评估子宫内膜癌预后的一个指标。

### 参考文献:

- [1] Wu W, Tang X, Hu W, et al. Identification and validation of metastasis-associated proteins in head and neck cancer cell lines by two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2002, 19(4): 319.
  - [2] 乐杰. 妇产科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2008: 263.
  - [3] Fromowitz FB, Viola MV, Chao S, et al. ras p21 expression in the progression of breast cancer[J]. *Hum Pathol*, 1987, 18: 1268.
  - [4] 陈琳磊,董辉,袁洪,等. 钙结合蛋白 S100P 与肿瘤关系的研究进展[J]. *广东医学*, 2009, 30(5): 813.
  - [5] Ito Y, Arai K, Nozawa R, et al. S100A10 expression in thyroid neoplasms originating from the follicular epithelium: contribution to the aggressive characteristic of anaplastic carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(4): 2679.
  - [6] Sharma MR, Koltowski L, Ownbey RT, et al. Angiogenesis-associated protein annexin II in breast cancer: selective expression in invasive breast cancer and contribution to tumor invasion and progression[J]. *Expe Mol Pathol*, 2006, 81(2): 146.
  - [7] Hayes MJ, Shao D, Bailly M, et al. Regulation of actin dynamics by annexin 2[J]. *EMBO J*, 2006, 25(9): 1816.
  - [8] Pei H, Zhu H, Zeng S, et al. Proteome analysis and tissue microarray for profiling protein markers associated with lymph node metastasis in colorectal cancer[J]. *J Proteome Res*, 2007, 6(7): 2495.
- (收稿日期:2009-07-08 修回日期:2009-08-07)
- 
- (上接第 400 页)
- NR2A complex after transient brain ischemia[J]. *Brain Res*, 2002, 955(1-2): 123.
- [12] Hou XY, Zhang GY, Zong YY. Suppression of postsynaptic density protein 95 expression attenuates increased tyrosine phosphorylation of NR2A subunits of N-methyl-D-aspartate receptors and interactions of Src and Fyn with NR2A after transient brain ischemia in rat hippocampus[J]. *Neurosci Lett*, 2003, 343(2): 125.
  - [13] Wyneken U, Marengo JJ, Villanueva S, et al. Epilepsy-induced changes in signaling systems of human and rat postsynaptic densities[J]. *Epilepsia*, 2003, 44(2): 243.
  - [14] Ciechanover A, Heller H, Katz-Etzion R, et al. Activation of the heat-stable polypeptide of the ATP-dependent proteolytic system[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78(2): 761.
  - [15] Hershko A, Heller H, Elias S, et al. Components of ubiquitin-protein ligase system. Resolution, affinity purification, and role in protein breakdown[J]. *J Biol Chem*, 1983, 258(13): 8206.
  - [16] Ehlers MD. Activity level controls postsynaptic composition and signaling via the ubiquitin-proteasome system[J]. *Nat-neurosci*, 2003, 6(3): 231.
  - [17] Simpkins KL, Guttman RP, Dong YN, et al. Selective activation induced cleavage of the NR2B subunit by calpain[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2003, 23(36): 11322.
  - [18] Araujo IM, Xapelli S, Gil JM. Proteolysis of NR2B by calpain in the hippocampus of epileptic rats[J]. *Neuroreport*, 2005, 16(4): 393.
- (收稿日期:2009-03-24 修回日期:2009-07-03)