

· 综 述 ·

## MUC1 的研究进展\*

翁羽蕙 综述, 张 铀<sup>△</sup> 审校

(昆明医学院第二附属医院血液科, 昆明 650101)

关键词: MUC1; 肿瘤疫苗; 信号传导

中图分类号: R730.5; Q51

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)10-1288-03

MUC1 黏蛋白(简称 MUC1)是由 MUC1 基因编码的一种高糖基化、高分子量蛋白。它对正常的上皮起润滑和保护作用,同时还介导信号转导和细胞黏附功能,免疫活化和抑制作用等。在肿瘤组织中,MUC1 常出现异常表达,非极性分布,且由于糖基转移酶活性增高而导致的糖基化不完全,使正常情况下隐蔽的表位暴露出来,成为肿瘤生物学治疗的靶点。

### 1 MUC1 的结构特点

MUC1 是黏蛋白家族成员,又称为多形上皮黏蛋白(poly-morphic epithelial mucin, PEM)、上皮膜抗原(epithelial membrane antigen, EMA)、CD227 及 CA153 等,其相对分子质量大于 400 000,是一种主要分布于腺上皮细胞的跨膜糖蛋白,最先得自 Shimizu 于 1982 年从人的乳汁中分离得到。MUC1 由多肽骨架和 O-糖苷键连接的糖基侧链构成,其中糖占 80%,分为细胞外区、跨膜区和胞内区。跨膜区(28 个氨基酸)和胞内区(72 个氨基酸)在不同种属间的结构是高度保守的,可能与其组织表达的特异性有关。胞外段是细胞表面最先与机体免疫系统接触的膜表面分子之一,含 30~90 个 VNTR,每个 VNTR 由 20 个氨基酸组成,它们是 HGVTSAPDTRPAPGSTAPPA。其中 PDTRP 部位是 B 细胞及 T 细胞共同识别的表位,可与 MUC1 特异性抗体及细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)相结合,从而对其免疫原性的决定起重要作用。

MUC1 基因转录后可形成不同的 cDNA 产物,编码产生相应的同种型,即 MUC1/REP、MUC1/SEC、MUC1/X、MUC1/Y 和 MUC1/Z。MUC1/REP 是通常所说的膜结合型 MUC1,MUC1/SEC 是分泌型 MUC1,二者均含有 VNTR,而 MUC1/X、MUC1/Y 和 MUC1/Z 蛋白序列中不含 VNTR,因此无糖基化,分子量也小得多(33~45 kd)。早期对膜结合型 MUC1 生物学功能的认识主要局限于其润滑、保护及调节细胞间的黏附等机械作用。近年研究发现,膜结合型 MUC1 作为一个癌基因可导致正常细胞转化并可抑制细胞凋亡<sup>[1]</sup>。对于 MUC1 基因转录后的选择性剪切而形成不同同种型的机制目前仍不清楚,可能与细胞的癌变有一定的关系。

### 2 MUC1 的表达

正常情况下,MUC1 广泛分布于机体正常各黏膜表面,乳腺、卵巢、呼吸道、胃肠道、泌尿生殖道等腺上皮细胞的管腔面顶部都有 MUC1 的表达,随后发现骨髓造血细胞也有表达<sup>[2]</sup>,作者的研究也证实了 MUC1 在血液系统恶性肿瘤中的高表达<sup>[3-5]</sup>。

而在恶性肿瘤组织中如:乳腺癌、胃癌、结肠癌、多发性骨髓瘤等多种癌组织中,MUC1 的表达存在质与量的异常。具体体现在以下 3 个方面:(1)表达量增高为正常的 10 倍以上,且增加的程度与肿瘤的恶性程度成正比;(2)极性分布消失,整个腺上皮细胞表面均表达 MUC1,胞浆中也表达;(3)糖链的糖

基化不全,糖链变短,分支少,结构简单,导致新糖链表位形成(如 TF, Tn, STn 糖表位)和肽链表位暴露(如 PDTRP 区),使 MUC1 成为可被免疫系统识别的肿瘤抗原。

### 3 MUC1 在信号传导中的作用

MUC1 及其同种型表达于细胞表面,与多种细胞表面受体具有相似的结构,它们通过胞内段的酪氨酸磷酸化位点,与多种蛋白激酶相互作用,并被后者磷酸化,进而参与多种信号转导通路。有作者通过在乳腺癌细胞株 MCF-7 上的研究表明,通过磷酸化,MUC1 能结合 Grb2/SOS,参与受体酪氨酸激酶介导的信号转导。跨膜酪氨酸激酶家族 erbB 受体包括 erbB1 即 EGFR、erbB2、erbB3、erbB4 研究发现,MUC1 与 4 类 erbB 家族成员均可发生相互作用。同时,最近有研究表明 MUC1 的表达抑制 erbB1 的降解,使细胞中 EGFR 的总量增加<sup>[6]</sup>,这可能也是细胞发生癌变的机制之一。此外,成纤维细胞生长因子受体(FGFR)与血小板衍生生长因子受体 $\beta$ (PDGFR $\beta$ )也是重要的受体酪氨酸激酶。有研究表明 PDGFR $\beta$  与 MUC1 的相互作用促进了肿瘤的生长、浸润以及转移<sup>[7]</sup>。

MUC1 还可通过同 Wnt 信号通路中 APC、 $\beta$ -catenin 等相互作用,影响肿瘤的发展及转移潜能。在乳腺癌中,MUC1 与 APC 相互作用,使乳腺癌发生时间提前,并增强乳腺癌细胞系的侵袭性<sup>[8]</sup>。同时,MUC1 通过胞内段的富含丝氨酸模块(SRM)直接与 $\beta$ -catenin 结合,阻断 GSK-3 $\beta$  对 $\beta$ -catenin 的磷酸化,使之无法被蛋白酶体降解,引起 $\beta$ -catenin 在胞浆和细胞核内的堆积,从而激活 Wnt 途径<sup>[9]</sup>。此外,另有研究表明 MUC1 还与非受体型酪氨酸激酶中的 Src、Abl 等通路相关<sup>[10-11]</sup>。

### 4 MUC1 与肿瘤的侵袭和转移

肿瘤的侵袭转移是一个复杂、多步骤的过程,涉及到肿瘤细胞、细胞外基质与间质微环境的相互作用。多种研究表明,MUC1 在食管癌、胃癌、乳腺癌、卵巢癌、膀胱癌等多种肿瘤组织中均有不同程度的异常表达,其 mRNA 或蛋白表达升高或异常,常常提示肿瘤侵袭转移,且与患者的预后相关。其机制可能是:(1)癌细胞膜表面高密度表达的丝状 MUC1 分子可阻碍膜表面固定的配体与其受体的相互作用,可降低胞外基质内整合素介导的细胞间相互作用。已证实 MUC1 的表达使 E-钙黏蛋白(E-cadherin)下调<sup>[12]</sup>,从而使肿瘤相互间的黏附力下降。(2)MUC1 的 VNTR 序列糖基化不完全,从而导致其空间构象的改变,导致空间位阻增大,抑制了肿瘤细胞之间的黏附,使肿瘤细胞的侵袭性增强。(3)MUC1 上 Sialy LeX 表位可作为 E-钙黏蛋白的配体,与损伤或有炎症的血管内皮细胞上的 E-钙黏蛋白作用,使瘤细胞与血管内皮细胞黏附,易于穿过血管壁,从而利于瘤细胞转移<sup>[13]</sup>。此外,有文献报道 MUC1 抗

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30760080)。<sup>△</sup> 通讯作者,E-mail:youzhangmd@yahoo.com.cn。

黏附作用可通过与黏附分子如 ICAM-1、E-选凝素等相互作用而引起。

## 5 MUC1 在肿瘤生物治疗中的作用

MUC1 是最先与机体免疫系统接触的细胞表面分子之一,它几乎表达于所有的上皮细胞腺癌中,且 MUC1 可以通过非人类主要组织相容性复合体(MHC)限制性及 MHC 限制性两种方式诱导活化 CTL,杀伤表达 MUC1 的肿瘤细胞,因而 MUC1 是肿瘤主动特异性免疫治疗理想的靶分子<sup>[14]</sup>。目前,已有多种基于 MUC1 的疫苗用于肿瘤生物治疗研究,部分已经进入临床实验阶段。

**5.1 糖链疫苗** 由于癌变时 MUC1 糖链结构发生变化,主要表现为糖基化不全,导致新的糖链表位暴露,如 T<sub>n</sub>、ST<sub>n</sub> 等,因此利用人工合成的相应糖链表位及适当的载体交联,加以佐剂,可诱发针对相应表位的免疫应答。目前,ST<sub>n</sub> 糖链疫苗已进入 II 期临床试验阶段。

**5.2 核酸疫苗** 核酸疫苗是近年兴起的一种肿瘤疫苗,它是将编码肿瘤抗原的目的基因片段克隆到真核表达载体,再将该载体直接注入宿主体内,刺激机体产生体液及细胞免疫应答。虽然核酸疫苗的机制尚不清楚,但是其不需要病毒载体,构建简便,且操作方便,成本低廉,可在机体内持续表达肿瘤抗原,持续的刺激机体免疫系统,有效的诱导细胞及体液免疫应答较其他疫苗具有更大的优势,因而是一种很有应用价值的肿瘤疫苗。核酸疫苗的方法同样可以用于表达 MUC1 的肿瘤的生物治疗。已有很多研究表明构建含有 MUC1 的核酸疫苗可以诱发机体的免疫应答。Rong 等<sup>[15]</sup>报道,在小鼠胰腺癌模型中,MUC1 DNA 疫苗可诱导出免疫应答,并且对胰腺癌模型具有保护及治疗作用。本实验室亦已成功构建了 MUC1-2VNTR 核酸疫苗<sup>[16]</sup>,目前正在进一步研究该疫苗在多发性骨髓瘤小鼠模型中诱导产生的细胞及体液免疫应答。

**5.3 多肽疫苗** MUC1 的多肽骨架中含有许多连续重复序列,可非 MHC 限制性或 MHC 限制性活化 CTL,特异地杀伤肿瘤细胞。因此,可设计含有一定数量连续重复序列的肽作为疫苗,诱导针对肿瘤细胞的特异性细胞免疫应答。Avichezer 等<sup>[17]</sup>合成了含有一个 VNTR 的肽段,联合佐剂免疫小鼠,引起了强烈的特异性迟发超敏反应,并可抑制表达 MUC1 的小鼠胸腺瘤生长,延长荷瘤小鼠的生存期。在一项东部肿瘤合作组织的研究中,171 例 III 或 IV 期的 NSCLC 患者在接受标准的一线化疗后随机分为 L-BLP25 疫苗加最佳支持治疗组和单纯最佳支持治疗组,结果接受 L-BLP25 疫苗治疗的患者的总生存期比对照组长 4.4 个月,且治疗无明显不良反应<sup>[18]</sup>。目前该疫苗已开始 NSCLC 患者中做 III 期临床研究<sup>[19]</sup>。

**5.4 MUC1 与 DC 的联合应用** 有证据表明,很多肿瘤细胞不能引起机体抗肿瘤免疫作用的机制,并不是由于缺乏肿瘤抗原,而是机体的 APC 不能将肿瘤抗原呈递给免疫系统。因此,通过 DC 负载肿瘤抗原来提高 MUC1 的抗原呈递能力以达到激发有效免疫应答的目的成为近年研究的热点。

**5.4.1 转染 MUC1 基因的 DC** 有研究证明含人 MUC1 cDNA 腺病毒载体转染的人外周血 DC 体外可诱导产生 MUC1 特异性 CD8<sup>+</sup> CTL,且转染 DC 的表面标志物不受影响。Hengerson 等<sup>[20]</sup>将含有 22 个连续重复序列的 MUC1 cDNA 转入小鼠树突细胞,诱导出了 MUC1 特异性的 IgG 及 CTL。用阳离子脂质体和用腺病毒载体转染的 2 种 DC 的 MUC1 表达和免疫原性无明显区别。Pecher 等<sup>[21]</sup>开展了 I、II 期临床实验,用脂质体将 MUC1 cDNA 转染 10 例 DC 用于治疗晚期乳腺或胰腺癌。在接受治疗的 10 例患者中,4 例 MUC1 特异

性 CTL 显著增强,未发生严重不良反应。近来,又有 Fong 等<sup>[22]</sup>报道在接种部位扩增 DC,可增强质粒直接转染 DC 的效率,从而上调 DNA 疫苗的免疫效果。

**5.4.2 荷载 MUC1 多肽的 DC** Kontani 等<sup>[23]</sup>将晚期或转移性乳腺癌或肺癌患者的 DC 与 MUC1 抗原或肿瘤溶解产物组合,免疫患者后发现其肿瘤减小或症状减轻,生存时间延长。体外用负载 MUC1 抗原肽的 DC 可诱导特异性 CTL 并有效杀伤表达 MUC1 和 HLA-A2 的急性髓细胞性白血病<sup>[24]</sup>。最近,由甘露糖 MUC1 重组蛋白诱导的 DC 疫苗已进入 I 期临床试验<sup>[25]</sup>。

**5.4.3 MUC1+肿瘤细胞融合的 DC** DC 与 MUC1 表达阳性的肿瘤细胞融合(FC/MUC1)诱导产生特异性的 MUC1 免疫应答可阻断或延迟自发性乳腺癌的发展,其免疫效应与初次免疫时间密切相关。FC/MUC1 除了活化 CD8<sup>+</sup> T 细胞,还可以活化 CD4<sup>+</sup> T 细胞,但其体内迁移、归巢和活化 T 细胞的机制知之甚少。用荧光标记的 FC/MUC1 皮下注射转基因小鼠发现,融合的 DC 可以迁移到局部引流淋巴结并与 T 细胞相互作用,促使 T 细胞发生增殖,产生 MUC1 特异性 CD8<sup>+</sup> CTL 和分泌 IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-10 CD4<sup>+</sup> T 细胞,从而产生多种抗肿瘤效应机制。

## 6 MUC1 单抗相关疫苗

国际上已确认的 MUC1 单克隆抗体高达 60 多种,这些抗体主要识别 MUC1 胞外 VNTR 序列中的 APDTRPAPG 区域,具有模拟抗原及免疫调节的双重作用,能克服机体免疫抑制,打破免疫耐受,代替肿瘤抗原诱导特异性主动免疫反应。目前,有些单抗已进入临床研究阶段。Danielczyk 等<sup>[26]</sup>最近研制了一种抗 MUC1 糖链单克隆抗体,该抗体具有高肿瘤特异性、高亲和性以及多结和位点等许多优点,更重要的是它能引起强烈的 ADCC 活动和细胞毒素介导的杀伤作用。

总之,MUC1 与肿瘤的发生发展密切相关,而其特有的结构功能特点使其成为肿瘤治疗的一个理想靶分子,目前已有多种疫苗在动物实验中取得了较好的结果,部分已进入临床研究,具有良好的临床应用前景。

## 参考文献:

- [1] Creaney J, Segal A, Sterrett G, et al. Overexpression and altered glycosylation of MUC1 in malignant mesothelioma [J]. *Br J Cancer*, 2008, 98(9):1562.
- [2] Berois N, Varangot M, Aizen B, et al. Molecular detection of cancer cells in bone marrow and peripheral blood of patients with operable breast cancer. Comparison of CK19, MUC1 and CEA using RT-PCR [J]. *Eur J Cancer*, 2000, 36(6):717.
- [3] 魏华萍, 张铀, 杨玲. MUC1 黏蛋白在多发性骨髓瘤中的表达及其意义 [J]. *白血病·淋巴瘤*, 2005, 14(1):30.
- [4] 王欣, 张铀, 杨红, 等. MUC1 基因在血液系统恶性肿瘤中的表达及临床意义 [J]. *白血病·淋巴瘤*, 2006, 15(6):438.
- [5] 杨红, 张铀, 高春林, 等. MUC1 基因在淋巴瘤中的表达及意义 [J]. *山东医药*, 2009, 49(13):42.
- [6] Pochampalli MR, el Bejjani RM, Schroeder JA. MUC1 is a novel regulator of ErbB1 receptor trafficking [J]. *Oncogene*, 2007, 26(12):1693.
- [7] Singh PK, Wen Y, Swanson BJ, et al. Platelet-derived growth factor receptor beta-mediated phosphorylation of

- MUC1 enhances invasiveness in pancreatic adenocarcinoma cells[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(11):5201.
- [8] Hattrup CL, Fernandez-Rodriguez J, Schroeder JA, et al. MUC1 can interact with adenomatous polyposis coli in breast cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 316(2):364.
- [9] Huang L, Chen D, Liu D, et al. MUC1 oncoprotein blocks glycogen synthase kinase 3 $\beta$ -mediated phosphorylation and degradation of beta-catenin[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(22):10413.
- [10] Al Masri A, Gendler SJ. MUC1 affects c-Src signaling in PyV MT-induced mammary tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2005, 24(38):5799.
- [11] Mukherjee P, Tinder TL, Basu GD, et al. MUC1 (CD227) interacts with lck tyrosine kinase in Jurkat lymphoma cells and normal T cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2005, 77(1):90.
- [12] Yuan Z, Wong S, Borrelli A, et al. Down-regulation of MUC1 in cancer cells inhibits cell migration by promoting E-cadherin/catenin complex formation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362(3):740.
- [13] Thirkill TL, Cao T, Stout M, et al. MUC1 is involved in trophoblast transendothelial migration[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773(6):1007.
- [14] Tarp MA, Clausen H. Mucin-type O-glycosylation and its potential use in drug and vaccine development[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1780(3):546.
- [15] Rong YF, Jin DY, Wu WH, et al. Induction of protective and therapeutic anti-pancreatic cancer immunity using a reconstructed MUC1 DNA vaccine [J]. *BMC Cancer* 2009, 9:191.
- [16] 罗云娇, 刘昆, 刘月波, 等. 多发性骨髓瘤 MUC1-2VNTR 真核表达载体构建及鉴定[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2008, 17(5):334.
- [17] Avichezer D, Taylor-Papadimitriou J, Arnon R. A short synthetic peptide (DTRPAP) induces anti-mucin (MUC-1) antibody, which is reactive with human ovarian and breast cancer cells[J]. *Cancer Biochem Biophys*, 1998, 16(1-2):113.
- [18] Butts C, Murray N, Maksymiuk A. Randomized phase IIB trial of BLP25 liposome vaccine in stage IIIB and IV non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(27):6674.
- [19] Sangha R, Butts C. L-BLP25: a peptide vaccine strategy in non small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(15 Pt 2):S4652.
- [20] Henderson RA, Konitsky WM, Barratt-Boyes SM, et al. Retroviral expression of MUC-1 human tumor antigen with intact repeat structure and capacity to elicit immunity in vivo[J]. *J Immunother*, 1998, 21(4):247.
- [21] Pecher G, Haring A, Kaiser L, et al. Mucin gene (MUC1) transfected dendritic cells as vaccine: results of a phase I/II clinical trial[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2002, 51(11-12):669.
- [22] Fong CL, Mok CL, Hui KM. Intramuscular immunization with plasmid coexpressing tumour antigen and Flt-3L results in potent tumour regression[J]. *Gene Ther*, 2006, 13(3):245.
- [23] Kontani K, Taguchi O, Ozaki Y, et al. Dendritic cell vaccine immunotherapy of cancer targeting MUC1 mucin[J]. *Int J Mol Med*, 2003, 12(4):493.
- [24] Brugger W, Schneider A, Schammann T, et al. Dendritic cell-based vaccines in patients with hematological malignancies[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 938(3):359.
- [25] Loveland BE, Zhao A, White S, et al. Mannan-MUC1-Pulsed dendritic cell immunotherapy: a phase I trial in patients with adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(3 Pt 1):869.
- [26] Danielczyk A, Stahn R, Faulstich D, et al. PankoMab: a potent new generation anti-tumour MUC1 antibody[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2006, 55(11):1337.

(收稿日期:2009-09-18 修回日期:2009-11-09)

· 综 述 ·

## 生肌调节因子在儿童横纹肌肉瘤诊断中的研究进展\*

马玉虹 综述, 王 珊<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属儿童医院肿瘤外科 400014)

关键词: 生肌调节因子; 横纹肌肉瘤; 儿童

中图分类号: R738.7; R730.43

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)10-1290-03

横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma, RMS)为常见的软组织肿瘤之一,年龄40岁以上者罕见,是儿童较常见的恶性肿瘤之一,占儿童癌症第7~8位,也是0~20岁儿童及青少年期软组织肉瘤中最常见的类型,约占50%<sup>[1]</sup>;其发病部位、病理类型与年龄有关<sup>[2]</sup>;而决定其预后的主要因素包括肿瘤部位、病理分级和大小<sup>[3]</sup>。5年生生存率较低<sup>[4]</sup>。

RMS来源于横纹肌的间充质细胞,由几乎不表现任何细胞分化证据的原始细胞组成,也可包含具有成熟骨骼肌特征的高度分化的细胞。根据肿瘤组织学和遗传学特点,RMS组织学分类包括胚胎型横纹肌肉瘤[embryonal rhabdomyosarcoma, ERMS]占有RMS的80%,梭形细胞葡萄状变异型和腺泡型横纹肌肉瘤[alveolar rhabdomyosarcoma, ARMS]占

\* 基金项目:重庆医科大学校级重点课题(XBZD200708)。 <sup>△</sup> 通讯作者。