

- biquitous feature of gastrointestinal stromal tumors[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(22): 8118-8121.
- [24] Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, et al. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors [J]. *Science*, 2003, 299(5607): 708-710.
- [25] Corless CL, Schroeder A, Griffith D, et al. PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors: requence, spectrum and in vitro sensitivity to imatinib[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(23): 5357-5364.
- [26] Joensuu H. Risk stratification of patients diagnosed with gastrointestinal stromal tumor[J]. *Hum Pathol*, 2008, 39(10): 1411-1419.
- [27] 师英强, 杜春燕. 胃肠道间质瘤的外科治疗问题[J]. *肿瘤研究与临床*, 2006, 18(5): 518-520.
- [28] Gajiwala KS, Wu JC. KIT kinase mutants show unique mechanisms of drug resistance to imatinib and sunitinib in gastrointestinal stromal tumor patients[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 1542-1547.
- [29] Rios M, Lecesne A. Interruption of imatinib (IM) in GIST patients with advanced disease after one year of treatment: Updated results of the prospective French Sat'coma
- Group randomized phase III trial on long term survival. *ASCO Annual Meetings Proceedings Part I*[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25: 10016-10023.
- [30] 李宇, 孙晓滨. 胃肠道间质瘤研究进展[J]. *新医学*, 2008, 39(9): 623-625.
- [31] Zalberg JR, Verweij J, Casali PG. Outcome of patients with advanced gastro-intestinal stromal tumours crossing over to a daily imatinib dose of 800 mg after progression on 400 mg[J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(12): 1751-1757.
- [32] 王全红, 王金桃. 胃肠道间质瘤影像诊断[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 2-78.
- [33] Blanke CD, Demetri GD. Long-term results from a randomized phase II trial of standard-versus higher dose imatinib mesylate for patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing KIT [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(4): 620-625.
- [34] 梁建芳, 郑绘霞. 胃肠道间质瘤病理诊断新进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(1): 58-64.

(收稿日期: 2010-10-27 修回日期: 2011-03-15)

• 综 述 •

单酰基甘油酯酶促进肿瘤生长及侵袭研究进展

秦 易¹综述, 王晓波², 龚建平¹审校

(1. 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 400010; 2. 重庆市涪陵中心医院肝胆外科 408000)

关键词: 单酰基甘油酯酶; 2-花生四烯酸甘油酯; 游离脂肪酸; 肿瘤

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.21.038

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)21-2160-03

单酰基甘油酯酶(MAGL)是丝氨酸水解酶超家族成员之一,与激素敏感性脂解酶一起将脂肪细胞和其他细胞内储存的三酰甘油分解为甘油和脂肪酸。此外,它还能够作用于内源性大麻素系统。但目前其生物学功能尚未完全了解。近年来部分学者开始关注其在癌症中的作用。本文通过对MAGL生理生化作用的描述,简要介绍其研究现状。

1 MAGL的三维结构特征

MAGL是MALL基因编码的蛋白,位于人类染色体3q21.3,相对分子质量为 33×10^3 ,广泛存在于真核生物和哺乳动物之中。MAGL是由1 222个不对称的空间结构组成的二聚体。MAGL呈现出 α/β 水解酶的结构特征,其二级结构特征是 α/β 水解酶折叠。此折叠包含中心的由7个平行链和1个反平行链构成的 β 平面(β -sheet)和外周的6个 α 螺旋。覆盖在结构保守的 β 平面和活性部位之上的帽状结构域(cap domain)大概由20个残基构成,其形态学改变是MAGL活性改变的关键部位。帽状结构域处于开放状态时MAGL则具有水解活性。帽状结构域内的活性部位即催化三聚体(catalytic triad),它紧密地重叠在其他的水解酶和氟哌啶醇氧化酶(haloperoxidases)之上,并由Ser丝氨酸(Ser122)、Asp天冬氨酸(Asp239)和His组氨酸(His269)三个残基构成。这种立体构象,对催化三聚体结构特征提供了直接理论依据。Ser122位于GXSGX丝氨酸水解酶共有序列中,在 $\alpha 3$ 螺旋和 $\beta 5$ 链之间,在“亲核肘”(nucleophilic elbow)转弯处能够找到这一超家

族。帽状结构域的开放与酶活性部位的暴露形成了氧离子洞。氧离子洞由Ala丙氨酸(Ala51)和Met蛋氨酸(Met123)构成NH氮氢(NH)骨架,并在水解过程中能够起固化阴离子四面体的作用^[1]。

2 MAGL的生理作用

2.1 参与三酰甘油分解 作为丝氨酸水解酶超家族成员之一的MAGL,参与三酰甘油的代谢,其代谢场所主要为肝脏。MAGL是分解三酰甘油(TG)最后一步的关键酶。TG在脂肪三酰甘油脂肪酶/激素敏感脂肪酶作用下生成sn2,3-二酰甘油,激素敏感脂肪酶再将sn2,3-二酰甘油分解为单链2-MAG,2-MAG在MAGL作用下生成游离脂肪酸(FFA)和甘油。FFA可参与 β 氧化和TG再生。甘油则被分泌出细胞,而在某些细胞,被分泌的甘油能够被再利用参与TG合成^[2]。

2.2 MAGL与内源性大麻素系统 内源性大麻素系统是一个复杂的系统,包括大麻素、大麻素受体以及相关合成和分解蛋白。MAGL在降解内源性大麻素2-花生四烯酸甘油酯(2-AG)过程中起关键作用^[3]。它能够将2-AG降解为花生四烯酸和甘油。花生四烯酸在环氧化酶作用下生成前列腺素。2-AG是内源性大麻受体CB1、CB2的主要激动剂,其信号传导主要受MAGL调控^[4]。大麻素受体属于G蛋白耦联受体,2-AG与其结合后拥有广泛的药理学特性,从调节神经递质释放到抑制神经炎症,再从调节癌细胞生长到诱发痛觉消失等。MAGL作为2-AG的主要水解酶,其水解作用占到85%^[5]。

因此, MAGL 降低 2-AG 水平可以促进炎症和引起疼觉过敏, 抑制其活性可以抗炎和镇痛^[6]。

MAGL 的活性是决定体内 2-AG 和花生四烯酸水平的主要因素, 不仅仅表现在脑, 同时也表现在脾、肺和肝^[7]。经 MAGL 选择性抑制剂 JZL184 处理的小鼠, 神经系统和外周组织呈现出不同的单酰甘油酯水平, 颅内的 2-AG 较外周明显升高。MAGL 在神经系统的另一特异性表现为它对大脑花生四烯酸水平的调控作用, 然而这一作用未在任何外周组织中发现^[8]。这表明 MAGL 代谢单酰甘油酯的组织特异性。

3 MAGL 的抑制剂

MAGL 抑制剂具有多重保护作用, 如神经保护、抗炎、镇痛、抗癌和抗药物依赖作用^[9]。有报道称 URB754 为 MAGL 的从头合成的抑制剂, 然而 Saario 等^[10]通过实验证实这种抑制剂对 MAGL 是无效的。Burston 等^[11]通过进一步实验证实复合物 N-arachidonoyl maleimide (NAM) 具有 MAGL 抑制作用, 且这种效应呈剂量依赖性。但是, NAM 并非选择性地抑制 MAGL。它可以同马来酰亚胺 (maleimide) 官能团发生化学反应。因此, NAM 也能够同其他的含有硫醇基的小分子和蛋白反应, 如谷胱甘肽。Long 等^[12]通过体外实验证实, JZL184 是第 1 个高效的不可逆的 MAGL 选择性抑制剂, 能有效升高颅内 2-AG 水平, 还能升高外周组织 MAGL 水平。JZL184 通过甲酰化 MAGL 的丝氨酸亲核体来抑制 MAGL。

4 MAGL 与肿瘤的关系

随着致癌性转化的细胞代谢的重新编排, 肿瘤细胞代谢领域出现已经形成了新的视野。细胞实验证实, 在雄激素依赖的前列腺癌细胞 DU-145 中, 抑制 2-AG 代谢, 升高的内源性 2-AG 能抑制癌细胞增殖并引起凋亡。机制是通过下调 DU-145 中催乳素受体以抑制癌细胞的增殖和凋亡。2-AG 还能负性调节腺苷酸环化酶活性, 从而降低癌细胞的侵袭性。MAGL 能够磷酸化 2-AG 使其转化为 LPA, 改变脂质代谢, 促进癌细胞的生长和存活^[13]。

Daniel 等^[14]研究证实人类原发性导管乳腺癌比恶性程度较低的髓样乳腺癌 MAGL 水平高。在神经生长因子诱导增殖的乳腺癌细胞 (EFM-19) 中, 2-AG 能够下调癌细胞中神经生长因子 Trk 受体来抑制癌细胞的增殖。在上述 2 种癌细胞中, 都显示出 2-AG 抑制了癌细胞的有丝分裂。因此, MAGL 可以通过分解 2-AG 来促进癌细胞的增殖和侵袭。

Nomura 等^[7]提出了一条全新的关于癌症侵袭性的通路, MAGL-FFA 通路。这条通路指出 MAGL 作为侵袭性癌细胞的关键的代谢中心, 调节一个脂肪酸网络系统, 这个系统介导多种致癌信号通路。RNA 干扰和药理学阻断侵袭性癌细胞 MAGL 的表达可导致癌细胞侵袭性降低, 而这种降低的侵袭性能够被高脂饮食逆转。非侵袭性癌细胞过表达 MAGL 则引起细胞侵袭性增加。MAGL 促进肿瘤细胞的侵袭性不是通过降解 2-AG 引起的, 而是通过其调节的脂肪酸系统。实验结果显示, 侵袭性的癌细胞获得了释放储存在中性脂质中 FFA 的能力。实验中 MAGL 及其产物 FFA, 在恶性黑色素瘤细胞 (C8161, MUM2B)、乳腺癌细胞 (231MFP)、卵巢癌细胞 (SK-OV3) 等人类侵袭性癌细胞株中都有显著升高。MAGL 赋予癌细胞迁移性和致病性, 是由于 MAGL 分解 MAGs 生成大量 FFAs 导致的, 而不是 MAGL 本身的作用。癌细胞中的 MAGL 将 MAGs 分解为 FFAs 并引起一系列脂质信号增加, 如溶血磷脂酸 (LPA)、溶血磷脂酰胆碱 (LPC)、溶血磷脂酸乙醇胺 (LPE)、磷脂酸 (PA)、前列腺素 E2 (PGE2)^[14]。其中 G 蛋白耦

联的 LPA 和 PGE2, 这两种分子已经被证实具有促进肿瘤细胞的侵袭性的作用^[15]。实验证实这些升高的脂质与 FFA 参与的 β 氧化无关。该途径中, 几种额外的脂质, 如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂质、1-磷酸鞘氨醇、胆固醇, 二酰甘油和三酰甘油都不受 MAGL 活性的影响。作者认为, β 氧化是 MAGL-FFA 致病通路的下游因子, 而关于 FFAs 是如何转化为癌前信号还不清楚。

来源于花生四烯酸的 PGE2, 在肝癌中表达增高。它能够调节多种癌细胞迁移或侵袭。在肝癌细胞中, PGE2 磷酸化其下游黏着斑激酶 (FAK) 的 Tyr397 位点, 使 FAK 激活。FAK 能够与整合蛋白受体和生长因子结合, 促进细胞迁移和侵袭。FAK 还能磷酸化下游的 Paxillin 蛋白的 Tyr31 位点使其活化。活化的 Paxillin 激活 Erk2 来调节癌细胞的黏着和侵袭^[16]。

肝癌细胞中的 LPA 能够激活多种 G 蛋白耦联受体促进癌细胞存活。不同的受体激活不同的抗凋亡信号通路。LPA 同 LPA2 受体结合后激活 LPA, 活化的 LPA2 同 Siva-1 结合, 使其泛素化和降解, 破坏 Siva-1 在 DNA 损伤诱导的凋亡作用。抑制 LPA2 表达, 可以升高 Siva-1 蛋白水平促凋亡, 并增加阿霉素诱导的凋亡相关蛋白 Caspase-3 裂解和凋亡^[17]。升高的 LPA 可以激活 G 蛋白受体耦联受体的自分泌/旁分泌, 为细胞有丝分裂和增殖提供一种微环境。LPA 分别活化 LPA1-5、p2y5、GPR87 受体, LPA 同受体结合后激活小 GTP 酶 Rho 和 Rho 激酶。小 GTP 酶 Rho 和 Rho 激酶具备促进细胞增殖能力^[18]。

5 展 望

目前, MAGL 在肿瘤致病机制中的作用仍不完全明确。已有实验表明, 人工合成的外源性大麻素 WIN 促进肝癌细胞凋亡, 并诱导部分细胞存活因子如 survivin、c-IAP2、Bcl-2 的显著下降^[19]。因此, 内源性的大麻素 2-AG 对肝癌细胞凋亡也起促进作用, 而癌细胞中的 MAGL 浓度对癌细胞的凋亡起重要调控作用。

肝脏作为脂代谢的中心, 是分解三酰甘油的主要场所, MAGL 在肝脏中的表达呈组织特异性, 并具备转录后调控机制。LPA 是肝细胞癌增殖的癌基因信号分子之一, 其作用机制至今并不完全明了^[20]。与正常肝细胞相比, 肝癌细胞中的 PGE2 表达明显增高, 其促进癌细胞的黏合、迁移和侵袭的机制也不完全清楚。结合上述 MAGL-FFA 途径, 推测肝细胞肝癌的恶化可能同 MAGL 表达密切相关, 并且 MAGL-FFA 途径可能是肝癌发生的主要机制。其次, MAGL-FFA 途径生成的癌性脂质具有促进癌细胞转移的作用, MAGL 可能成为肝癌转移的标志物, 也可能作为判断癌症预后的标志物。需要更进一步的研究来证实该推断。当前, 对 MAGL 的研究已经为肿瘤的发病机制开辟了一条新的道路。药理学阻断或基因干扰 MAGL 表达都能够抑制癌细胞的迁移和侵袭并增加癌细胞对抗癌药物的敏感性。因此, 明确 MAGL 在肿瘤中的作用途径对肿瘤的生长和侵袭具有重要意义。

参考文献:

- [1] Labar G, Bauvois C, Borel F, et al. Crystal structure of the human monoacylglycerol lipase, a key actor in endocannabinoid signaling[J]. *Chembiochem*, 2010, 11(2): 218-227.
- [2] Prentki M. Glycerolipid metabolism and signaling in health and disease[J]. *Endocrine Society*, 2008, 29(6): 647-676.
- [3] Guzman M. A new age for MAGL[J]. *Chem Biol*, 2010,

- 17(1):4-6.
- [4] Pacher P, Mukhopadhyay P, Mohanraj R, et al. Modulation of the endocannabinoid system in cardiovascular disease therapeutic potential and limitations[J]. *Hypertension*, 2008, 52:601-607.
- [5] Blankman JL, Simon GM, Cravatt BF. A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol[J]. *Chem Biol*, 2007, 14(12): 1347-1356.
- [6] Magriotti V, Naxakis G, Dimitra HL, et al. A novel monoacylglycerol lipase inhibitor with analgesic and anti-inflammatory activity[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(20): 5424-5427.
- [7] Nomura D, Hudak C, Ward A, et al. Monoacylglycerol lipase regulates 2-arachidonoylglycerol action and arachidonic acid levels[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(22):5875-5878.
- [8] Long J, Nomura D, Cravatt B. Characterization of monoacylglycerol lipase inhibition reveals differences in central and peripheral endocannabinoid metabolism[J]. *Chem Biol*, 2009, 16(7):744-753.
- [9] Viso A, Cisneros JA, Gutierrez SO. The medicinal chemistry of agents targeting monoacylglycerol lipase[J]. *Curr Top Med Chem*, 2008, 8:231-246.
- [10] Saario SM, Palomaki V, Lehtonen M, et al. URB754 has no effect on the hydrolysis or signaling capacity of 2-AG in the rat brain[J]. *Chem Biol*, 2006, 13(8):811-814.
- [11] Burston JJ, Sim-Selley LJ, Harloe JP, et al. N-arachidonyl maleimide potentiates the pharmacological and biochemical effects of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol through inhibition of monoacylglycerol lipase[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 327(2):546-553.
- [12] Long JZ, Li W, Booker L, et al. Selective blockade of 2-arachidonoylglycerol hydrolysis produces cannabinoid behavioral effects[J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 5(1):37-44.
- [13] Bektas M, Payne SG, Liu H, et al. A novel acylglycerol kinase that produces lysophosphatidic acid modulates cross talk with EGFR in prostate cancer cells[J]. *J Cell Biol*, 2005, 169(5):801-811.
- [14] Daniel N, Long JZ, Niessen S. Monoacylglycerol lipase regulates a fatty acid network that promotes cancer pathogenesis[J]. *Cell*, 2010, 140(1):49-61.
- [15] Dorsam RT, Gutkind JS. G-protein-coupled receptors and cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(2):79-94.
- [16] Bai XM, Zhang W, Liu NB, et al. Focal adhesion kinase: important to prostaglandin E2-mediated adhesion, migration and invasion in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(1):129-136.
- [17] Lin FT, Lai YJ, Makarova N, et al. The lysophosphatidic acid 2 receptor mediates down-regulation of siva-1 to promote cell survival[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282:37759-37769.
- [18] Skill NJ, Scott RE, Wu J. Hepatocellular carcinoma associated lipid metabolism reprogramming[J]. *J Surg Res*, 2011, 169(1):51-56.
- [19] Pellerito O, Calvaruso G, Portanova P, et al. The synthetic cannabinoid WIN sensitizes hepatocellular carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis by activating p8/CHOP/DR5 axis[J]. *Molecular Pharmacology*, 2010, 153:854-863.
- [20] Obo Y, Yamada T, Furukawa M, et al. Frequent mutations of lysophosphatidic acid receptor-1 gene in rat liver tumors[J]. *Mutation Research/Fundamental and Mechanisms of Mutagenesis*, 2009, 660(1):47-50.

(收稿日期:2010-11-20 修回日期:2011-03-10)

抗菌药物降阶梯治疗特点及临床应用

易冬玲¹综述,陈东风²审校

(1. 四川省成都市传染病医院传染儿科 610061; 2. 第三军医大学大坪医院, 重庆 400042)

关键词:降阶梯; 抗菌药物; 特点; 应用

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.21.039

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)21-2162-03

随着社会科学和医药技术的飞速发展,当今药学与医学互相积极配合,在药物治疗学发展基础上,为防止和减少药物不良反应的发生,做到合理用药,根据药理学理论及产生的效果和实际意义,在治疗上采用了一系列的新的治疗方案和策略。其中抗菌药物降阶梯治疗(de-escalation therapy)就是一种抗感染的经验性治疗方案的总结,这也是中国现在应用优化抗菌药物治疗策略之一^[1],它在临床抗感染治疗中具有独特的优势,发挥了比较好的作用。

1 抗菌药物降阶梯治疗特点

1.1 两阶段有机结合 降阶梯治疗策略是在2001年3月第21届急诊医学和监护医学国际研讨会和7月在第22届国际

化疗会议上提出的。降阶梯治疗是一种抗感染的经验性治疗方案,具有以下2个特性:(1)开始抗感染治疗即选用单一、广谱、强效的抗生素,以尽量覆盖可能导致感染的病菌;(2)48~72 h后根据微生物学检查药敏结果调整抗生素的使用,使之更具有针对性。它是近年来采用的一种对于严重细菌感染新的治疗策略。该策略包括2个阶段:第一阶段使用广谱抗生素的经验性治疗;第二阶段降级使用相对窄谱的抗生素^[2],也就是根据微生物学检查和药敏结果调整相对窄谱、具有针对性的抗生素品种,缩短疗程,最大可能地保障抗感染治疗的最佳疗效。其目的是提高生存率,改善患者预后,减少细菌耐药,避免广谱抗生素的不良反应,也是为了平衡患者个体和社会之间的