

Caveolae/caveolin 与肺部疾病的研究进展*

王 勤,李玉英 综述,王建春[△] 审校

(第三军医大学新桥医院呼吸内科研究所,重庆 400037)

关键词:肺疾病;小窝;小窝蛋白

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.02.038

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)02-0192-03

1953 年 Palade 在电镜下发现血管内皮细胞表面有一些瓶颈状的内陷结构,2 年后 Yamada 在膀胱上皮细胞表面发现同类结构,并正式命名为小窝(caveolae)。50 多年来,随着现代细胞技术的发展,科研工作者可以分离、纯化 caveolae,并通过基因敲除或 siRNA 干扰技术对其标志蛋白小窝蛋白(caveolin)进行干扰,极大地扩展了对 caveolae/caveolin 结构和功能的认识。研究表明,caveolae/caveolin 广泛分布于机体内,影响着细胞分化、增殖、衰老、炎症、肿瘤等多种病理、生理过程,在疾病的发生、发展和转归中具有重要意义^[1]。本文着重概述了 caveolae/caveolin 在肺部疾病中作用的研究进展。

1 caveolae/caveolin 概述

细胞膜上具有由不同成分组成的结构域,在细胞的信号传导中行使不同的功能,其中富含胆固醇和磷脂酰肌醇的具有特殊膜微区的结构称为脂筏(lipid raft)。caveolae 是具有烧瓶底座型凹陷形态的特殊脂筏结构,直径约 50~100 nm,主要由胆固醇、糖基鞘磷脂、鞘磷脂及其结构蛋白 caveolin 组成,在内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞、脂筏细胞中表达尤为丰富,参与了膜泡运输、膜磷脂代谢、胆固醇运输、血管形成等。此外,caveolae 结构聚集了多种受体分子,如表皮生长因子受体、血小板源性生长因子受体、血管紧张素受体等,在信号通路中起重要的枢纽作用^[2]。

caveolin 是 caveolae 的表面标志蛋白和结构蛋白,对维持 caveolae 结构和功能的完整起关键作用,相对分子质量 21~24 kD,其家族成员有 caveolin-1、caveolin-2 和 caveolin-3,每种 caveolin 均具有不同的亚型。caveolin-1 和 caveolin-2 共同表达于大部分终末分化的细胞中,在内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞上表达尤其丰富,caveolin-3 则特异性表达于肌细胞上,如心肌细胞、平滑肌细胞,与肌细胞的合成密切相关。caveolin 对信号分子主要起抑制作用,通过抑制细胞增殖,促进细胞的成熟与分化,维持细胞的稳定^[3]。

2 caveolae/caveolin 与肺部疾病

caveolae/caveolin 在肺组织中含量丰富,存在于内皮细胞、平滑肌细胞、肺泡上皮细胞和成纤维细胞上。caveolin 表达缺陷(cav-/-)的小鼠在分析人类疾病的发病机制方面是重要的动物模型,通过对 cav-/-小鼠的研究发现,其呼吸系统出现明显的异常:上皮细胞过度增殖和基质蛋白积聚引起肺泡隔增厚,肺血管平滑肌的过度增殖,引起肺动脉高压;肺血管内皮系统的通透性增加,易发生肺水肿;游泳试验中基因敲除小鼠耐力下降,与限制性肺疾病的表现一致,提示 caveolae/caveo-

lin-1 可能在多种肺部疾病中起关键调控作用^[4]。

2.1 肺水肿 过量的液体由微循环向肺间质转运会导致肺水肿。caveolin-1 可以抑制氧化亚氮(nitric oxide,NO)生成,降低血管通透性。cav-/-小鼠在脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)所致肺损伤后肺水肿形成率是正常小鼠的 1.6 倍,肺血管内皮系统的通透性也同时增加,约为正常小鼠的 5.7 倍。采用小分子 siRNA 技术干扰鼠肺 caveolin-1 的表达,发现肺血管内皮细胞间连接间距迅速增大,当 caveolin-1 表达恢复,血管间隙恢复正常^[5]。在肺组织中,大分子、水和电解质的转运维持着体液平衡和组织的完整性。在肺泡上皮上,大分子物质在毛细血管内皮上的转运可以被胆固醇耗竭剂,如非律平,或是在 cav-/-小鼠中被显著抑制,提示 caveolae 在此过程中起重要调控作用。此外,相邻的 caveolae 之间可以反复融合和分离,使大分子在上皮细胞上被动扩散。钠通道定位于 caveolae,提示肺泡上皮钠水转运是由 caveolae 介导的,由于钠在上皮细胞上的转运依赖渗透压梯度,caveolae 细胞膜微区相对细胞膜上其他富含胆固醇和鞘脂的部位更有利于水的渗透。这更高的渗透性可能取决于定位在 caveolae 上高水平的饱和脂肪酸链和水通道蛋白^[6]。总之,caveolae 在肺血管通透性和大分子、水、电解质的清除中具有重要作用,调控肺水肿的发生、发展。

2.2 肺炎 caveolin-1 在树突状细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞上均有表达,参与调控了白细胞表面的信号通路和胞内运输,在炎症的生物学反应中发挥重要作用。体内试验发现 caveolin-1 可以抑制急性肺损伤后引起的水肿和血管渗出,其机制可能与 caveolin-1 对炎症因子如 NO 合酶(NOS)、胞内黏附分子-1 的抑制,降低肺血管通透性有关。体外研究中,在鼠肺泡巨噬细胞 caveolin-1 通过丝裂素活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)途径介导抗炎作用。使用 siRNA 使巨噬细胞上 caveolin-1 表达沉默可以显著增加 LPS 刺激后肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)、白介素-6(interleukin-6,IL-6)等炎症因子表达,减少抗炎因子 IL-10 的合成。相反,过表达 caveolin-1 可以增加 p38 MAPK 磷酸化,抑制核因子- κ B(NF- κ B)和激活物蛋白-1,从而减少 LPS 介导的炎症因子的生成。caveolin-1 介导了多种与炎症反应相关的途径,调控呼吸系统的炎症反应^[7]。

2.3 肺血管疾病 微点阵分析表明,在接受外科移植的原发性肺动脉高压患者的病肺中,caveolin-1 mRNA 表达较健康者明显减少。在肺动脉高压的动物模型中,caveolin-1 和 caveo-

* 基金项目:国家自然科学基金课题资助项目(30700346)。△

通讯作者,Tel:13228685577;E-mail:wjc5577@126.com。

lin-2 在肺泡上皮和肺动脉内皮细胞上的表达也显著减少,伴随信号传导蛋白和转录激活物-3 磷酸化增加和细胞周期蛋白 D1、D3 表达增加,在 caveolin-1 和 caveolin-2 基因敲除小鼠中也可观察到相同的结果。cav^{-/-}小鼠肺动脉压力较正常小鼠增加近 1 倍,右心室压力也明显增加,长期肺血管功能不全最终导致肺动脉高压^[8]。此外,caveolin-1 可以抑制血管平滑肌增殖,其表达减少或缺失可以使血管平滑肌增殖显著增强,在肺血管重塑的病理过程中起重要作用^[9]。

2.4 纤维增生性肺疾病 成纤维细胞和气道平滑肌细胞增生在多种纤维增生性肺疾病,如哮喘、COPD、特发性肺纤维化、闭塞性细支气管炎、囊性纤维化中具有重要作用。caveolin-1 维持了间充质细胞稳定,抑制细胞过度生长,在调控细胞增殖中具有重要作用。抑制 caveolin-1 表达可以促进成纤维细胞和气道平滑肌细胞增殖,相反,过表达 caveolin-1 使成纤维细胞和气道平滑肌细胞细胞周期停滞于 G₀/G₁ 期,使成纤维细胞过早衰老,抑制生长因子介导的平滑肌细胞增殖^[10]。缺少 caveolin-1 可以导致纤维增生性肺疾病,同样,在纤维病变组织中也可以发现 caveolin-1 表达下降。在对 caveolin-1 和 caveolin-2 的基因敲除鼠的组织学研究发现,肺泡隔增厚,细胞外纤维蛋白沉着增加,基膜网硬蛋白免疫反应增强,表明 caveolin 在调节肺的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)生成和纤维化中有重要作用。在博来霉素诱导的肺纤维化中,肺泡 I 型上皮细胞上 caveolin-1 表达明显减少。在 TGF- α 介导的肺纤维化和卵清蛋白介导的与气道重塑相关的气道炎症中也发现 caveolin-1 的表达减少。此外,特发性肺纤维化患者的肺组织中 caveolin-1 表达减少,提示肺纤维化可能与 caveolin-1 表达降低减弱了对转化生长因子- β 受体(transforming growth factor- β receptor, T β R)的抑制作用,激活转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)途径,导致 ECM 生成有关^[11]。

2.5 肺癌 由于肺癌表现为不受控制的气道和肺泡上皮细胞增殖,敲除 caveolin-1 和 caveolin-2 基因可以使肺实质中细胞大量增生、气道上皮增厚,提示 caveolin 表达减少可能促进肺癌发生,可能是 caveolin-1 的表达减少解除了对非受体酪氨酸激酶、G 蛋白的抑制作用,激活 β -连环蛋白,促进上皮细胞向间充质细胞转化和肿瘤生成^[12]。此外,敲除 caveolin 可以促进乳腺癌细胞向肺内转移,可能与 caveolin 基因敲除后减少了对基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)、MMP-9 分泌的抑制有关^[13]。然而,不是所有的肿瘤细胞中都有 caveolin 的表达减少,少数临床研究还发现 caveolin 可以促进肿瘤转移和增加抗肿瘤药耐药。在不伴有 caveolin-1 减少的肺癌中,caveolin-1 可激活黏附斑激酶,促进肿瘤转移^[14]。总之,caveolin 在肺癌中的作用是复杂的,在不同的肿瘤类型以及肿瘤发展的不同时期既可以作为肿瘤抑制因子起作用,又可以被看作成为一个原癌基因,这个领域还有待于进一步深入研究。

3 caveolae/caveolin 临床应用前景和展望

综上所述,caveolae/caveolin 在肺部疾病如肺炎、肺水肿、肺纤维化、肺癌等的体内、外模型中的广泛作用已得到公认,调节 caveolin 的表达和功能可能有利于肺部疾病的治疗。已有实验表明增加 caveolin-1 的表达能有效改善博来霉素导致的肺纤维化;给小鼠使用携带具有生物活性的 caveolin-1 片段的

肽类药物,可有效减少 TGF- β 激活所导致的肺纤维化^[15]。这些研究表明使用药物恢复 caveolin 的表达有利于肺部疾病的治疗,针对 caveolin 的相关药物在今后肺部疾病中将有更广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Cohen AW, Hnasko R, Schubert W, et al. Role of caveolae and caveolins in health and disease[J]. *Physiol Rev*, 2004, 84(11):1341-1345.
- [2] Stan RV. Structure of caveolae[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1746(3):334-348.
- [3] Sonnino S, Prinetti A. Sphingolipids and membrane environments for caveolin[J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(4):597-600.
- [4] Krajewska WM, Maslowska I. Caveolins: structure and function in signal transduction[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2004, 9(2):195-197.
- [5] Miyawaki SK, Predescu D, Shimizu J, et al. siRNA-induced caveolin-1 knockdown in mice increases lung vascular permeability via the junctional pathway[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 290(3):405-407.
- [6] Liu L, Askari A. Beta-subunit of cardiac Na⁺-K⁺-ATPase dictates the concentration of the functional enzyme in caveolae[J]. *Am J Phys*, 2006, 291(4):569-572.
- [7] Jin Y, Lee SJ, Minshall RD, et al. Caveolin-1: a critical regulator of lung injury[J]. *Am J Phys Lung Cell Mol Phys*, 2011, 300(2):151-153.
- [8] Mathew R, Huang J, Shah M, et al. Disruption of endothelial-cell caveolin-1 alpha/raft scaffolding during development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension[J]. *Circulation*, 2004, 110(11):1499-1502.
- [9] Patel HH, Zhang S, Murray F, et al. Increased smooth muscle cell expression of caveolin-1 and caveolae contribute to the pathophysiology of idiopathic pulmonary arterial hypertension[J]. *FASEB J*, 2007, 21(17):2970-2973.
- [10] Wang XM, Zhang Y, Kim HP, et al. Caveolin-1: a critical regulator of lung fibrosis in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(23):2895-2898.
- [11] Lee EK, Lee YS, Han IO, et al. Expression of caveolin-1 reduces cellular responses to TGF- β 1 through down-regulating the expression of TGF- β type II receptor gene in NIH3T3 fibroblast cells[J]. *Biochem and Biophys Res Commun*, 2007, 359(2):385-387.
- [12] Linge A, Morishima N, Kasper M, et al. Bleomycin induces caveolin-1 and-2 expression in epithelial lung cancer A549 cells[J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(8):1343-1346.
- [13] Williams TM, Medina F, Badano I, et al. Caveolin-1 gene disruption promotes mammary tumorigenesis and dramatically enhances lung metastasis in vivo role of cav-1 in cell invasiveness and matrix metalloproteinase(MMP-2/9) secretion[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(49):5130-5133.
- [14] Zhang Q, Furukawa K, Chen HH, et al. Down-regulation

of caveolin-1 in mouse Lewis lung cancer P29 is a causal factor for the malignant properties in a high-metastatic subline[J]. *Oncol Rep*, 2006, 16(2):289-293.

[15] Francesco DG, Michael PL, Sergio AJ, et al. Caveolin-1, TGF- β receptor internalization, and the pathogenesis of

systemic sclerosis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2008, 20(6):713-715.

(收稿日期:2011-07-18 修回日期:2011-09-09)

· 综 述 ·

白血病耐药及预后相关研究新进展*

朱丽丹, 张江综述, 孔佩艳 Δ , 李杰平 审校
(第三军医大学新桥医院血液科, 重庆 400037)

关键词: 白血病; 耐药; 磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B; 环氧化酶 2

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.02.039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)02-0194-02

白血病是造血系统恶性肿瘤, 目前最常用的治疗方法是化疗。大多数患者可以通过化疗得到缓解, 但由于耐药问题的存在, 导致部分患者因为化疗失败而死亡。研究表明导致白血病耐药的原因有很多, 其中白血病细胞产生的多药耐药(multi-drug resistance, MDR)是最主要的原因, 也是目前白血病治疗中最大的难题。

MDR 的形成机制目前发现除了由 MDR 基因及其产物所介导的机制外, 还与肺耐药蛋白/主要穹窿蛋白(LRP/MVP)、Ras 蛋白、乳腺癌耐药蛋白(BCRP)、拓扑异构酶 II (Topo II)、谷胱甘肽-S 转移酶(GST)、多药耐药相关蛋白(MRP)、蛋白激酶 C(PKC)、微环境介导耐药等多种机制密切相关。近年来随着研究的深入, 发现磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase, PI3K/Akt)信号通路异常、环氧化酶 2(COX-2)、白血病干细胞及白血病相关 miRNA, 对于了解分析白血病 MDR 的机制, 深入研究各种白血病临床化疗方案的制定和预后判断方面, 具有重要的作用。

1 PI3K/Akt 信号通路

1.1 PI3K/Akt 信号通路简介 PI3K/Akt 信号通路是一种参与调节各种细胞生长、代谢及分化的重要信号通路, 主要通过影响多种效应分子的活化状态来抑制凋亡, 促进增殖。PI3K 是受体信号转导过程中的重要分子, 可被多种理化因素和细胞因子激活; Akt 是一种原癌基因, 是位于 PI3K 下游的一个重要激酶, PI3K 和 Akt 均能维持细胞正常功能及促进细胞生存, 并在共同构成的细胞应激反应过程中抑制细胞凋亡、维持细胞重要功能和促进细胞生长。另一方面, Akt 可以活化哺乳动物雷帕霉素靶分子(mammalian target of rapamycin, mTOR), 磷酸化并激活 P70S6 激酶, 核蛋白体的翻译在下游核蛋白体 S6 激酶活化后被促进。并且 mTOR 可以磷酸化 4EBP1, 使其从 eIF4E 中解离, 从而对 cyclin1 等周期调节蛋白进行翻译^[1]。

1.2 PI3K/Akt 与白血病的 MDR PI3K/Akt 信号转导通路各成分的活化在人类肿瘤中很常见, 正常细胞暴露于致癌物中时 PI3K/Akt 转导通路快速活化, 从而导致细胞大量增生, 且该通路的活化提高了受损细胞凋亡的阈值, 从而抑制细胞的凋亡。有研究表明多种肿瘤预后不良因素与该通路各成分的活

化密切相关^[2-3], 与肿瘤细胞耐药也有一定的联系。白血病细胞抗凋亡能力会因 MDR 的过度表达得到增强, 进而降低化疗药物的疗效, PI3K/Akt 信号通路在其中发挥了重要作用。

1.2.1 PI3K/Akt 与多药耐药相关蛋白 1(MRP1) MRP1 是一种膜糖蛋白, 它通过细胞膜排除多种抗肿瘤药物, 降低化疗药物在白血病细胞内的浓度, 导致抗凋亡的现象。有研究结果表明^[4], PI3K/Akt 信号转导使白血病细胞产生耐药通过上调 MRP1 而达到, 其中 MRP1 与 PI3K/Akt 表达相关。MRP1 的水平在 Akt 的磷酸化被 PI3K 抑制剂 wortmannin 抑制后也逐渐下降。这些研究表明了应用 PI3K/Akt 抑制剂可以阻断 PI3K/Akt 通路的过度激化, 化疗药物对白血病细胞的敏感性, 在阻断 PI3K/Akt 通路的过度激化后得到增加, 从而逆转 MDR, 提高化疗疗效, 将成为临床上逆转白血病耐药的一种重要方法。

1.2.2 PI3K/Akt 与 Notch1 Notch 家族具有高度保守性, 可直接作为基因转录的细胞膜受体, 已有研究发现 Notch1 是在肿瘤检测到最常见的 Notch 家族的成员, Notch1 可增强肿瘤细胞的增殖能力与抗凋亡能力, 而 PI3K/Akt 参与 Notch1 信号途径对细胞凋亡的抑制。Mungamuri 等^[5]的研究中证实, Notch1 可以对 p53 抑制, 导致肿瘤细胞的减少或者凋亡, 最终引起耐药。

2 COX-2 与白血病

在花生四烯酸代谢成前列腺产物的过程有一种重要限速酶就是环氧化酶(cyclooxygenase, COX)。目前, 至少存在结构型的 COX-1 和诱导型的 COX-2 两种同工酶。COX-2 在多种上皮性肿瘤中如肺癌、胃癌、乳腺癌中普遍存在过度表达, 因而具有重要的临床意义, 同时大量研究也表明 COX-2 与白血病有密切的关系。Giles 等^[6]通过对 149 例慢性髓系白血病(CML)患者中 COX-2 的表达检测, 数据显示对照组中 COX-2 表达明显低于实验组, 患者生存率降低与 COX-2 密切相关。研究发现, 在初治和复发急性白血病(AL)患者骨髓中的 COX-2 表达明显高于缓解期患者, 并与骨髓中原始幼稚细胞比例表达一致^[7]。部分学者, 发现急性淋巴细胞白血病(ALL)中 COX-2 阴性组初次完全缓解(CR)率高于阳性组, COX-2 高表达的患者对化疗效果差, 缓解率低, 预后不佳^[8]。陈涛等^[9]研

* 基金项目: 重庆市科技攻关计划基金资助项目(2009C180); 第三军医大学临床科研课题基金资助项目(2007D174)。 Δ 通讯作者, Tel: (023)68774209; E-mail: peiyankong@yahoo.com.cn.