

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2014.21.1251

·综述·

四跨膜蛋白CO-029在肿瘤的侵袭与转移中的作用

赵鸣^{1,2} 综述, 李灼日², 武金才² 审校

(1.南华大学,湖南 衡阳 421000;

2.海南省人民医院肝胆外科,海南 海口 570311)

【摘要】 CO-029作为四跨膜蛋白超家族的重要成员之一,已有研究显示其在促进肿瘤侵袭与转移中的重要作用,但其具体机制仍知之甚少。研究明确其作用机制,有揭示肿瘤发生发展过程机制,作为预测肿瘤的进展及预后,进而开发新的肿瘤靶向治疗药物的潜在临床价值。

【关键词】 CO-029; 四跨膜蛋白; 侵袭; 转移**【中图分类号】** R73-37 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2014)21—3191—04

Role of tetraspanin CO-029 in invasion and metastasis of carcinoma. ZHAO Ming^{1,2}, LI Zhuo-ri², WU Jin-cai². 1. Nanhua University, Hengyang 421000, Hunan, CHINA; 2. Department of Liver and Gallbladder Surgery, People's Hospital of Hainan Province, Haikou 570311, Hainan, CHINA

【Abstract】 CO-029 belongs to the tetraspanins family, and has been revealed to play an important role in invasion and metastasis of carcinoma. However, how CO-029 promotes cancer invasion and metastasis is still poorly understood. Its explicit mechanisms in the development of tumor probably indicates that CO-029 has great potential clinical value in predicting the progression and the prognosis of cancer, and may be a potent molecular therapeutic target for cancer.

【Key words】 CO-029; Tetraspanin; Invasion; Metastasis

癌症被认为是“永不愈合的伤口”(A wound that never heals)。与癌症的长期斗争中,我们虽取得了不少成果,但对其发生发展的机制尚未完全明了,当前的各种诊断、治疗手段对肿瘤侵袭和转移的防治并不乐观,而肿瘤的广泛侵袭和转移是导致绝大多数患者无法手术治疗,预后差,甚至死亡的主要原因之一。CO-029作为四跨膜蛋白超家族的重要成员之一,当前研究已证实其在许多肿瘤的侵袭和转移中的重要作用。本文就CO-029的蛋白结构,分子生物学效应及在肿瘤发生、发展中的作用加以综述。

1 CO-029蛋白结构

CO-029是由237个氨基酸组成,其编码分子量约32 kD的蛋白质,有4个高度疏水的跨膜结构域,有锚定细胞膜和促进其与其他蛋白结合的功能。胞浆区的N端及C端中C端可与胞内的信号分子相连接,细胞外存在的2个EC环可结合胞外的蛋白及配体。SEC环是位于第一与第二跨膜结构域之间较小的结构;LEC环位于第三与第四跨膜结构域之间,通常由超过100个氨基酸残基及一些特殊的结构如CCG序列、高度保守的半胱氨酸序列组成^[1]。

2 CO-029分子生物学效应

早在20世纪90年代初,Szala等^[2]通过高效COS细胞表达系统,成功分离得到了完整的CO-029cDNA片段,并阐明了CO-029是一种27~34 KDa的单克隆抗体细胞表面糖蛋白,是一种肿瘤相关性抗原,为其进一步的分子生物学研究奠定了基础。

2.1 CO-029与四跨膜蛋白 Maecker等^[3]最早提出四跨膜蛋白超家族(TM4SF)为一类特殊的四次跨膜蛋白,广泛表达于大量不同物种,参与细胞生长、粘附、迁移和信号转导等多种生命活动,在许多疾病如艾滋病、丙肝等及肿瘤的发生发展过程中均起着重要作用^[4]。CO-029(或TM4SF3, Tspan 8)是一种由TSPAN8基因编码的进化保守的细胞膜蛋白,属于四跨膜蛋白超家族(TM4SF),是以4个高度保守的跨膜结构为特征的蛋白,在基因水平与其他四跨膜蛋白超家族成员有一定的关联性,其具有约1/4的同源氨基酸序列。CO-029作为四跨膜蛋白超家族中的重要一员,能结合膜内、跨膜及膜外蛋白,起到连接膜内外信号通道的作用,直接或间接作用于细胞的信号转导通道从而影响细胞的各种生命活动。

2.2 CO-029 与四跨膜蛋白网络 四跨膜蛋白网络(Tetraspanin Webs, TEM)是由各种四跨膜蛋白及细胞膜表面分子所构成,其产生的生物学效应远大于或不同于单个蛋白或分子的作用^[5]。目前的研究结果表明四跨膜蛋白的功能主要是作为“分子促进子”(Molecular facilitators),通过连接特异性的细胞表面蛋白增强功能性信号转导复合物的形成和稳定性,从而参与细胞的活化与增殖、粘附与迁移、分化与癌变等过程,发挥膜内、跨膜和膜外蛋白募集或整合的作用,起到膜内外信号通道桥梁的功能^[6-7]。CO-029 通过 TEM 这一重要信号平台,与许多不同类型的分子相互作用,从而产生各种分子生物学效应。其能与整合素大量结合,通过整合素的 α 亚基与富含 CCG 及 PxxCC 序列的 LEC 链接产生相互作用。目前研究普遍认为,整合素-四跨膜蛋白复合体依赖于钙粘附蛋白的作用,改变细胞极性,影响细胞外基质及血管的形成,促进肿瘤细胞的侵袭转移^[8]。

3 CO-029 与肿瘤

基于对 CO-029 分子生物学效应的初步探索,其在肿瘤发生发展中的重要作用,提示 CO-029 有揭示肿瘤侵袭转移发生过程机制的潜在价值。当前研究的取得的成果表明:CO-029 可与整合素 $\alpha 4$ 及血管细胞粘附因子-1 (VCAM-1) 等相结合,CO-029 表达的肿瘤细胞可通过上调血管内皮生长因子(VEGF) 及其受体的表达,促进相邻的成纤维细胞分泌基质金属蛋白酶(MMPs) 及尿激酶纤维蛋白溶酶原激活物(UPA),改变细胞基质和细胞间粘附性,促进血管的形成,推进肿瘤细胞的侵袭转移^[9]。CO-029 可能通过在不同肿瘤细胞中与特定整合素如 $\alpha 3\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 4$ 、 $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha v\beta 6$ 等结合形成复合体^[10-11],并通过 TEM 信号平台(蛋白酶、细胞因子受体、生长因子受体等),影响细胞基质间或细胞间的粘附作用或骨架蛋白重建,改变细胞表型,从而使肿瘤细胞获得移动、迁徙和浸润能力。

3.1 CO-029 与人黑色素瘤 在人黑色素瘤细胞中检测到 CO-029 是唯一过表达的侵袭相关性四跨膜蛋白^[12]。TSPAN8 基因的表达可能使黑色素瘤细胞能穿过皮肤基底膜,引起真皮侵袭和转移,目前其细胞生物学机制虽尚不明确,但 TSPAN8 基因可能是一个黑色素瘤早期诊断和治疗的新靶点。

3.2 CO-029 与消化系统肿瘤 有研究发现 CO-029 在食道癌、胃癌、胰腺癌及结直肠癌等消化系统肿瘤中 CO-029 与肿瘤的发生发展呈正相关,可通过上调 CO-029 的表达促进肿瘤的进展^[13-14]。相关报道有:①在胰腺癌细胞系中发现 CO-029 和 $\alpha 6\beta 4$ 组成

复合体后可激活 PKC,降低细胞对层粘连蛋白的粘附,使 $\alpha 6\beta 4$ 由粘附表型转为迁移表型,促进肿瘤细胞的转移^[11]。最近,德国的海德堡大学医院肿瘤细胞生物学系研究人员首次报道了 CO-029 可作为免疫缺陷小鼠体内胰腺癌启动细胞(PACIC)长期生存、侵袭、迁移的生物标记^[15];②在人大肠癌细胞中下调 CO-029 表达能显著抑制细胞运动,提示 CO-029 表达与肿瘤细胞迁移密切相关^[16]。有进一步研究表明下调结直肠癌细胞 CO-029 表达可上调细胞基质间层粘蛋白的整合素依赖粘附性和细胞间钙依赖粘附性,其机制可能是下调 CO-029 表达的细胞 CD44 水平下降而细胞表面的层粘蛋白锚定整合素 $\alpha 3\beta 1$ 和纤连蛋白-整合素 $\alpha 5\beta 1$ 水平升高。由此得出结论:CO-029 通过降低细胞粘附性,促进结直肠癌细胞的转移^[17]。

3.3 CO-029 与肝癌 研究显示在肝癌组织中 CO-029 的表达显著增高,并且 CO-029 的表达越高则肝癌的进展越快、预后越差。①早期研究表明 CO-029 mRNA 水平在癌组织中的水平高出正常组织 1.7 倍($P=0.030$),而 CO-029 的表达水平在发生肝内转移癌组织中与未发生转移癌组织比较差异无统计学意义($P=0.019$),表明 CO-029 可能促进肝细胞肝癌(HCC) 的血行性肝内转移,但其机制尚不明确^[18-19]。随后有研究显示 CO-029 在肝癌组织中表达显著高于及相应癌旁组织,在高转移潜能肝癌细胞系(MHCC97-H 与 MHCC97-L)的表达明显高于低转移潜能的肝癌细胞(PLC/PRF/5, SMMC7721 与 HepG2)。同时应用慢病毒干扰发现,在层粘蛋白-5 (Laminin-5) 刺激下,高转移潜能细胞 MHCC97-H 发生上皮间质转变(EMT) 过程(EMT 在促肿瘤转移、浸润中具有重要作用,是许多肿瘤侵袭和转移早期的一个重要的过程^[20])。EMT 是指具有极性的上皮细胞转换成为具有活动能力的间质细胞并获得侵袭和迁移能力的过程,在哺乳动物胚胎与器官发育、创伤愈合、组织纤维化、肿瘤形成与转移等生理病理过程中均有表现。EMT 以上皮细胞极性的丧失如 E-cadherin、 β -catenin 等及间质特性的获得如 Vimentin、N-cadherin 等为重要特征,表现为上皮细胞获得成纤维样细胞的特征:细胞间粘附减弱、运动性增强,且细胞间紧密连接及细胞极性均被破坏^[20-21]),而慢病毒感染 MHCC-97H-vshRNA-CO-029 细胞则未见 EMT 过程,有进一步研究表明其机制是 CO-029 能通过耦联整合素 $\alpha 6$ 介导 EMT 发生而促进肝细胞癌的侵袭转移^[22-23];②最新研究发现 CO-029 在肝内胆管细胞

癌(ICC)组织中亦存在高表达现象,但相关报道很少。有研究检测分析CO-029在肝内胆管癌、癌旁组织及肝内胆管癌细胞系HCCC-9810中的表达水平,结果显示CO-029在胆管细胞癌组织高表达,而在癌旁组织中则低表达,提示CO-029在胆管细胞癌组织的高表达与肿瘤复发转移密切相关^[24]。然而,ICC起病隐匿,临床表现缺乏特异性,早期确诊困难,术后复发率高,预后极差,已成为肝内原发肿瘤导致死亡的主要原因之一^[25-27]。且绝大多数肝内胆管癌患者死亡与肝内外侵袭转移、复发相关^[27-28]。但目前相关报道甚少,所以,对CO-029在肝内胆管癌侵袭转移的分子机制的探索蕴藏着巨大的临床应用价值,CO-029可能成为有效的肝内胆管癌侵袭转移、复发和预后判断的指标及防治手段和进一步提高肝内胆管癌治疗效果的关键。

4 展望

肿瘤侵袭转移和复发是多因素参与的过程,包括肿瘤细胞粘附、迁移和对细胞外基质的侵袭行为等^[25, 29-33],而慢性炎症刺激和肿瘤炎症微环境参与了上述各个环节,在肿瘤的发生发展、侵袭转移过程中扮演了非常重要的角色^[26, 31, 34]。当前,尽管慢性炎症在癌症中发挥作用的潜在机制仍未完全明了,但慢性炎症与癌症发生与发展的密切关系已被广泛接受,且被称为“癌症的第七大特征”^[34-37],是肿瘤发生、发展机制研究的热点之一。越来越多的临床和实验研究表明,炎性肿瘤微环境在肿瘤发生、生长和侵袭转移的各个环节均具有关键作用^[34, 36, 38]。慢性炎性肿瘤微环境中,肿瘤-炎性微环境界面之间可以通过多种炎症因子调节而互相作用,炎性肿瘤微环境不断被重塑,以适应肿瘤生长和侵袭转移^[39-41]。临床研究已经表明,慢性炎症刺激产生的炎性细胞因子TNF α 在肿瘤微环境中的组成性表达是许多恶性肿瘤的共同特征,其存在通常与预后不良相关^[41-43]。有研究指出TNF α 可以作为连接炎症和癌症病理学的一个调控关联子^[20, 44-48]。且已有研究证实:四跨膜蛋白与整合素以及其下游的信号分子与TNF α /TNF α R1之间有互作用^[20, 46, 49-50]。鉴于慢性炎症微环境与肿瘤关系密切、炎性因子TNF α 在肿瘤的重要作用^[49-50],及CO-029和TNF α 均能诱发肿瘤细胞EMT过程^[20, 22-23],有进一步探讨CO-029和TNF α 在肿瘤中可能存在互作用关系的潜在价值。

5 总结

CO-029作为四跨膜蛋白超家族中的重要一员,通过TEM这一重要信号平台与许多不同类型的分子

相互作用,从而产生各种分子生物学效应。目前对其功能研究文献报道很少,CO-029可能在肿瘤侵袭转移、预后预测中具有重要的作用和潜在临床价值,有待进一步研究。今后或许可以通过CO-029解释肿瘤侵袭转移的發生机制,对其进行检测,预测肿瘤的进展及预后,进而开发新的肿瘤靶向治疗药物,进一步提高肿瘤的治疗水平。

参考文献

- [1] Hemler ME. Tetraspanin functions and associated microdomains [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005, 6(10): 801-811.
- [2] Szala S, Kasai Y, Steplewski Z, et al. Molecular cloning of cDNA for the human tumor-associated antigen CO-029 and identification of related transmembrane antigens [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87 (17): 6833-6837.
- [3] Maecker H, Todd SC, Levy S. The tetraspanins superfamily: molecular facilitates[J]. FASEB, 1997, 11(6): 428-442.
- [4] Richardson MM, Jennings LK, Zhang XA, et al. Tetraspanins and tumor progression [J]. Chin Exp Metastasis, 2011, 28(3): 261-270.
- [5] Anez-Mo M, Barreiro O, Gordon-Alonso M, et al. Tetraspanin-enriched microdomains: a functional unit in cell plasmamembranes [J]. Trends Cell Biol, 2009, 19(9): 434-446.
- [6] Zoller M. Tetraspanins: push and pull in suppressing and promoting metastasis [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(1): 40-55.
- [7] Hemler ME. Specific tetraspanin functions [J]. J Cell Biol, 2001, 155(7): 1103-1107.
- [8] Janes SM, Watt FM. New roles for integrins in squamous-cell carcinoma [J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(3): 175-183.
- [9] Gesierich S, Berezovskiy I, Ryschich E, et al. Systemic induction of the angiogenesis switch by the tetraspanin D 6.1A/CO-029 [J]. Cancer Res, 2006, 66(14): 7083-7094.
- [10] Le Naour F, André M, Greco C, et al. Profiling of the tetraspanin web of human colon cancer cells [J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2006, 5(5): 845-857.
- [11] Herlevsen M, Schmidt DS, Miyazaki K, et al. The association of the tetraspanin D6.1A with the $\alpha 6\beta 4$ integrin supports cell motility and liver metastasis formation [J]. J Cell Sci, 2006, 116(Pt 21): 4373-4390.
- [12] Berthier-vergnes O, Kharbili ME, de la Fouchardière A, et al. Gene expression profiles of human melanoma cells with different invasive potential reveal TSPAN8 as a novel mediator of invasion [J]. Br J Cancer, 2011, 104(1): 155-165.
- [13] Le Naour F, André M, Greco C, et al. Profiling of the tetraspanin web of human colon cancer cells [J]. Mol Cell Proteomics, 2006, 5 (5): 845-857.
- [14] Zhou Z, Ran YL, Hu H, et al. TM 4SF3 promotes esophageal carcinoma metastasis via upregulating ADAM12m expression [J]. Clin Exp Metastasis, 2008, 25(5): 537-548.
- [15] Wang H, Rana S, Giese N, et al. Tspan8, CD44v6 and alpha6beta4 are biomarkers of migrating pancreatic cancer-initiating cells [J]. Int Cancer, 2013, 133(2): 416-426.
- [16] Greco C, Bralet MP, Ailane N, et al. E-cadherin/p120-catenin and

- tetraspanin CO-029 cooperate for cell motility control in human colon carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2010, 170(19): 7674-7683.
- [17] Wang H, Rana S, Giese N, et al. Tspan8, CD₄₄v6 and alpha6beta4 are biomarkers of migrating pancreatic cancer-initiating cells [J]. *Int Cancer*, 2013, 133(2): 416-26.
- [18] Kanetaka K, Sakamoto M, Yamamoto Y, et al. Overexpression of tetraspanin CO-029 in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatol*, 2002, 35(5): 637-642.
- [19] Kanetaka K, Sakamoto M, Yamamoto Y, et al. Possible involvement of tetraspanin CO-029 in hematogenous intrahepatic metastasis of liver cancer cells [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003 Nov, 18(11): 1309-1314.
- [20] Wu Y, Deng J, Rychahou PG, et al. Stabilization of snail by NF-kappaB is required for inflammation-induced cell migration and invasion [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(5): 416-428.
- [21] Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6): 1429-1437.
- [22] Jin-Cai Wu, Zhuo-Ri Li, Kai-Lun Zhou, et al. Overexpression of tetraspanin CO-029 induced epithelial-mesenchymal transition and its prognostic value in hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (3): e90528.
- [23] 武金才, 李灼日, 周开伦, 等. shRNA 下调 CO-029 基因对肝癌细胞侵袭与转移的影响 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2012, 18(2): 126-129.
- [24] Patsenker E, Wilkens L, Banz V, et al. The alphavbeta6 integrin is a highly specific immunohistochemical marker for cholangiocarcinoma [J]. *J Hepatol*, 2010, 52(3): 362-369.
- [25] Blendis L, Halpern Z. An increasing incidence of cholangiocarcinoma: why? [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127(3): 1008-1009.
- [26] Patel T. Increasing incidence and mortality of primary intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States [J]. *Hepatology*, 2001, 33 (6): 1353-1357.
- [27] Olnes MJ, Erlich R. A review and update on cholangiocarcinoma [J]. *Oncology*, 2004, 66(3): 167-179.
- [28] Li SQ, Liang LJ, Hua YP, et al. Long-term outcome and prognostic factors of intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2009, 122(19): 2286-2291.
- [29] Gores GJ. Cholangiocarcinoma: current concepts and insights [J]. *Hepatology*, 2003, 37(5): 961-969.
- [30] Ustundag Y, Bayraktar Y. Cholangiocarcinoma: a compact review of the literature [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(42): 6458-6466.
- [31] Meng F, Han Y, Staloch D, et al. The H4 histamine receptor agonist, clobenpropit, suppresses human cholangiocarcinoma progression by disruption of epithelial mesenchymal transition and tumor metastasis [J]. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1718-1728.
- [32] Li ZR, Wu YF, Ma CY, et al. Down-regulation of c-Myc expression inhibits the invasion of bile duct carcinoma cells [J]. *Cell Biol Int*, 2011, 35(8): 799-802.
- [33] 李振振, 李灼日, 廖春红, 等. 黏蛋白 1 鞣向小干扰 RNA 对胆管癌细胞侵袭力的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27(11): 1654-1657.
- [34] Mantovani A. Cancer: Inflaming metastasis [J]. *Nature*, 2009, 457 (7225): 36-37.
- [35] Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? [J]. *Lancet*, 2001, 357(9255): 539-545.
- [36] Hagemann T, Balkwill F, Lawrence T. Inflammation and cancer: a double-edged sword [J]. *Cancer Cell*, 2007, 12(4): 300-301.
- [37] Hoffmann A, Xia Y, Verma IM. Inflammatory tales of liver cancer [J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(2): 99-101.
- [38] Balkwill FR, Mantovani A. Cancer-related inflammation: common themes and therapeutic opportunities [J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(1): 33-40.
- [39] Friedl P, Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity [J]. *Cell*, 2011, 147(5): 992-1009.
- [40] Valastyan S, Weinberg RA. Tumor Metastasis: Molecular Insights and Evolving Paradigms [J]. *Cell*, 2011, 147(2): 275-292.
- [41] Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 883-899.
- [42] Chechlinska M, Kowalewska M, Nowak R. Systemic inflammation as a confounding factor in cancer biomarker discovery and validation [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(1): 2-3.
- [43] Karin M, Lawrence T, Nizet V. Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer [J]. *Cell*, 2006, 124(4): 823-835.
- [44] Pham CG, Bubici C, Zazzeroni F, et al. Ferritin heavy chain upregulation by NF-kappaB inhibits TNFalpha-induced apoptosis by suppressing reactive oxygen species [J]. *Cell*, 2004, 119(4): 529-542.
- [45] Greten FR, Eckmann L, Greten TF, et al. IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer [J]. *Cell*, 2004, 118(3): 285-296.
- [46] Charles KA, Kulbe H, Soper R, et al. The tumor-promoting actions of TNF-alpha involve TNFR1 and IL-17 in ovarian cancer in mice and humans [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(10): 3011-3023.
- [47] Hou CH, Yang RS, Hou SM, et al. TNF-α increases αvβ3 integrin expression and migration in human chondrosarcoma cells [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(3): 792-799.
- [48] Kurihara Y, Nakahara T, Furue M. αVβ3-integrin expression through ERK activation mediates cell attachment and is necessary for production of tumor necrosis factor alpha in monocytic THP-1 cells stimulated by phorbol myristate acetate [J]. *Cell Immunol*, 2011, 270(1): 25-31.
- [49] Komori J, Marusawa H, Machimoto T, et al. Activation-induced cytidine deaminase links bile duct inflammation to human cholangiocarcinoma [J]. *Hepatology*, 2008, 47(3): 888-896.
- [50] Jaiswal M, LaRusso NF, Burgart LJ, et al. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(1): 184-190.

(收稿日期:2014-05-14)