

• 综述 •

微囊蛋白-1的功能及其在结肠癌中的作用

崔海宏 杜静平 韩英

摘要:微囊是细胞膜上脂筏表面的一种特殊的细胞内凹陷。微囊蛋白1(caveolin-1)是胞膜上的一种整合膜蛋白,它是形成微囊的主要成分。它在许多细胞内高表达。微囊及caveolin-1对物质的转运,内皮的渗透和肿瘤的发生起重要的调节作用。Caveolin-1可能是一种抑癌基因,在人类肿瘤中已检测到它的突变。Caveolin-1也参与了结肠癌的发生。

关键词:微囊;微囊蛋白1;脂筏;大肠癌

Function of caveolin-1 and its role in colorectal cancer CHUEI Hai-hong, DU Jing-ping, HAN Ying. Department of Gastroenterology, Beijing Military Region Main Hospital, Beijing(100700), China

Abstract: Caveolae is a kind of specific invagination on the surface of lipid raft in cytomembrane. Caveolin-1 is a kind of integral membrane protein, which is the main protein constituting caveolae. They are extremely abundant in many cell types, caveolae and caveolin-1 play an important regulation effect on the transport of substances, endothelial permeability, tumorigenesis. Caveolin-1 gene is localized to a suspected tumor suppressor locus, and mutations in caveolin-1 have been implicated in human cancer. Caveolin-1 has been shown to be involved in human colorectal tumorigenesis.

Key words: Caveolae; Caveolin-1; Lipid raft; Colorectal cancer

细胞质膜上富含胆固醇和鞘脂的微结构域脂筏与微囊蛋白1(caveolin-1)结合后向细胞内凹陷,形成烧瓶状的微囊(caveolae)。微囊和caveolin-1在许多生理、病理活动中起重要作用。Caveolin-1在恶性肿瘤发生、发展的多方面、多环节上发挥着关键的调控作用。在恶性肿瘤中的作用值得进一步深入。下面从脂筏结构及其功能与结肠癌关系进行综述。

1 脂筏及微囊蛋白

生物膜是生命活动的主要结构基础,与细胞的恶性转化及肿瘤的演进也是息息相关。有关膜结构,1972年Singer和Nicolson提出了“液相双层脂质镶嵌模型”。但过去10年的研究认为,双层脂质在膜的各部分是不均一的,生物膜膜脂主要分为磷脂、糖脂和固醇类,脂筏(lipid raft)是膜双层内含有特殊脂质和蛋白质的微区。富含鞘磷脂、胆固醇、GPI-锚蛋白等。脂筏不仅存在于质膜上,而且还存在于高尔基体膜^[1]。此区域鞘磷脂和鞘糖脂(如神经节苷脂类)的饱和脂肪链紧密聚集,饱和脂肪链之间的空隙充满了作为间隔分子的胆固醇,形成液态有序相,也叫抗去垢剂膜。直径大约50~100nm左右。而不饱和脂肪链围绕在筏区的周围,形成非

筏区,非筏区的主要成分是卵磷脂、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸等,也含有胆固醇。脂筏区与非筏区相比,流动性差,脂肪链伸展,而且黏稠。所以出现分相。脂筏区比非筏区高大约0.4~1nm左右。质膜内外两层均含有脂筏,脂筏中已明确的脂膜内外层都有的细胞器为“质膜微囊”^[2]。微囊蛋白是胞膜上的一种支架蛋白,caveolin-1早先被称作VIP21,相对分子质量21 000~24 000,长178个氨基酸,分布在几乎所有细胞。脂筏在没有骨架蛋白成分时,呈平板状。与微囊蛋白相结合后,其形态和功能发生变化,共同组成细胞膜小窝。研究者已证实:微囊蛋白是微囊的重要组成部分。敲除caveolin-1基因的小鼠胚胎成纤维细胞膜上缺乏微囊形成。并且细胞增殖明显活跃,血管内皮生长因子受体阳性的内皮细胞明显增多^[3]。微囊蛋白基因家族有三个成员:包括caveolin-1(两种变异体α和β)微囊蛋白-2和微囊蛋白-3。Caveolin-1基因定位于人类染色体7q31.1的FRA7G位点,它们的功能是作为微囊内支架蛋白,组织浓缩特异脂质(胆固醇和鞘糖脂)和修饰信号转导分子等。微囊蛋白参与许多细胞生命活动,包括细胞内吞、胆固醇运输、细胞膜组装、信号转导和肿瘤生成等^[4]。许多信号分子直接与微囊蛋白结合。结合部位被称为脚手架区域(CSD)。即caveolin-1的拓扑结构中,中间的疏水残基102~134被认为在膜内形成发夹结构,而N端1~101和C端残基135~178均面向细胞质,其

作者单位:100700 北京军区总医院消化科(崔海宏、韩英);亚盛博士后流动站(杜静平)

通信作者:崔海宏,Email: hh_cui@sina.com

中 N 端 82~101 残基是 caveolin-1 的功能区域, 它可负向调节许多蛋白信号如: 内皮一氧化氮酶(eNOS)、表皮生长因子受体(EGFR)、src 酪氨酸激酶、H-Ras、G 蛋白、c-Neu 等。人 7 号染色体的这个位点, 在多种恶性肿瘤中常出现缺失或断裂, 可检测到 caveolin-1 的突变^[5-6]。Caveolin-1 在终末分化或静止的细胞内高表达, 包括: 脂肪细胞, 内皮细胞, 平滑肌细胞, 肺 I 型细胞, 这表明微囊蛋白负向调节细胞增殖。(1) Caveolin-1 抑制整合素介导的细胞外信号调节激酶(ERK)活化, 阻止信号向下游传递, 减少细胞周期素(cyclinD1)生成^[7]。(2) Caveolin-1 高度表达或活性升高时, 表皮生长因子、成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子、血小板源性生长因子、转化生长因子等主要生长因子表达下降; 而这些生长因子异常表达时, 反过来又会负向调控 caveolin-1 表达^[8]。体内外实验还发现, caveolin-1 也能抑制表皮生长因子受体家族中一种重要的受体(erbB-2)酪氨酸激酶活性, 而 erbB-2 异常表达也能负向调控 caveolin-1^[9]。(3) Caveolin-1 在 Tyr 14 位置磷酸化(pY14-Cav1), 可抑制 Src 酪氨酸激酶的磷酸化^[10], 阻止 Src 信号进一步向下游转导。(4) Caveolin-1 通过隔离 Fyn-Shc, 以免 Fyn 和 Shc 与 α 整合素相互作用, 从而抑制层黏连蛋白(一种细胞外基质)诱导的活化^[7]。(5) Caveolin-1 升高时 G 蛋白(Ras 基因的表达产物)和 p42/44 促丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)活性下降^[11], 而 MAPK 家族的主要成员是 JNK 和 ERK。Caveolin-1 通过阻止核转录因子类癌基因 Jun、Fos 及 cyclin D 实现对细胞周期的负向调控。(6) p53 作为负向调控细胞周期进展的因素, 同样受 caveolin-1 调节^[12]。Caveolin-1 表达增强时, p53 活性增强; 同时, p53 失活时, 也负向调控 caveolin-1 的表达。(7) Caveolin-1 与原癌基因 Neu(c-erbB-2)酪氨酸激酶活性之间存在相互的负反馈调节。原癌基因 Myc 通过缩短细胞周期的 G1 期并抑制细胞分化可致细胞恶性分化表型。研究发现激活的 c-Myc 和 N-Myc 与 caveolin-1 启动子 INR 元件相互作用, 在转录水平下调 caveolin-1^[13]。(8) Caveolin-1 抑制基质金属蛋白酶(MMP)的释放, 后者可切割透明质酸受体(CD44)的胞外部分, 导致受体与透明质酸基质的黏附减弱, 癌细胞的运动能力增强。同时, MMP 还可溶解胶原^[14]。(9) 与肿瘤转移负相关因子上皮钙黏附素(E-cadherin)的表达呈正相关, 这个过程是通过降低 β-连接素(β-catenin)通路的表达实现的^[15]。(10) 微囊蛋白可促进细胞的凋亡, caveolin-1 可增强纤维母细胞及上皮细胞对凋亡刺激的敏感性^[16]。

在巨噬细胞中, caveolin-1 的高表达也与细胞的凋亡有关^[17]。由于 PDGF 可激活 PI3-K/PKB(丝/苏氨酸蛋白激酶)信号通路介导的细胞存活, caveolin-1 对 PDGF 的负向调控导致平滑肌细胞由增殖转向凋亡^[18]。研究发现转铁蛋白受体 TfR1 在无胰岛素生长因子结合蛋白-3(IGFBP-3)的情况下, 通过转化生长因子途径可促进细胞生长, 而在 IGFBP-3 存在时则导致细胞走向凋亡^[19]。近年来发现 caveolin-1 与肿瘤细胞的转化、增殖以及转移都有密切的关系, caveolin-1 可抑制肿瘤细胞的非贴壁依赖性生长, 它是细胞恶性转化过程中获得的生长特性, 表现为细胞片层伪足伸展和失去接触性抑制, 与肿瘤侵袭和转移有关。实验证明, 经癌基因转化的 NIH3T3 细胞获得非贴壁依赖性生长的性质, 而将 caveolin-1 重组表达于 NIH3T3 细胞和人乳腺癌细胞可以消除此生长特性^[20]。研究发现 caveolin-1 蛋白表达停止或者水平降低, 是由于癌变细胞中 caveolin-1 基因启动区 CpG 岛的高度甲基化, 并认为 caveolin-1 基因启动区 CpG 岛的甲基化程度可作为细胞癌变指标之一^[21]。

2 微囊蛋白 1 与结肠癌

目前大多数学者认为, caveolin-1 为一种抑癌蛋白, 对肿瘤生长有抑制作用。Torres 等发现 caveolin-1 通过参与 Wnt/β-catenin-Tcf/Lef 通路的转录机制, 抑制生存素(survivin)的表达。可是, 在人结肠癌细胞系 HT-29(ATCC)中 caveolin-1 的表达使生存素 mRNA 和蛋白水平下降, 但在转移的人结肠癌细胞系 HT-29(US)内却没发现这个现象。在 HT-29(ATCC)中, 生存素的下降与 caveolin-1 和 β-catenin 的免疫共沉淀和共区域化是一致的。HT29(US)表达少量 E 钙黏素, 它聚集在细胞内而不是细胞表面。E 钙黏素的表达使 caveolin-1 下调 β-catenin-Tcf/Lef 通路的转录和生存素的表达。Caveolin-1 与 E 钙黏素共同作用, 抑制 β-catenin-Tcf/Lef 通路的转录和生存素的表达。在这些细胞中, E 钙黏素存在条件下, caveolin-1 下调生存素的表达与增加凋亡是一致的。所以 E 钙黏素的缺乏可严重影响 caveolin-1 抑制肿瘤的作用^[22]。Sahasrabuddhe 等^[23]观察了凝集素在细胞增生, 细胞膜的完整性及诱导 caveolin-1、p38 磷酸化的作用, 发现刺激 caveolin-1、p38 磷酸化可下调 EGFr 和 ERK, 从而抑制结肠癌细胞 HT-29 的生长。Bender 等检测结肠癌组织 caveolin-1 的表达, 发现: (1) 人类结肠癌细胞株和结肠癌组织中 caveolin-1 的表达均下降, 可能归因于同时检测到的 caveolin-1 mRNA 水平下调。用 Western 印迹法发现, 无论在结肠黏膜

还是间质,肿瘤组织的 caveolin-1 水平都明显低于正常。(2)将 caveolin-1 重组表达于 HT29 和 DLD1 结肠癌细胞系,并将两种细胞注入裸鼠,观察肿瘤形成情况,与未转染的亲代细胞相比,转染细胞系形成的肿瘤生长缓慢、体积小,甚至检测不到^[24]。但也有人做出相反的结论。Kim 等^[25]对 95 例结肠癌患者的癌组织及癌旁组织的微囊蛋白、Akt 和 EGFR 做了 RT-PCR,发现微囊蛋白、Akt 在癌组织表达明显升高,两者是正相关的,但与 EGFR 的表达无明显相关性。Fine 等^[26]应用免疫组织化学法比较结肠正常上皮、腺瘤、腺癌组织中 caveolin-1 的表达,41 例结肠癌标本中 36 例为阳性,而正常上皮和腺瘤为阴性,得出结论:Caveolin-1 增高与结肠腺癌的发生相关,与腺瘤的发生无显著相关性,增高程度与腺癌进展的分期不相关。

虽然研究者做了大量实验,但观察到癌细胞的脂筏及微囊蛋白的表现却不这么单纯,脂筏结构与肿瘤发生之间的关系值得我们进一步探索。

参 考 文 献

- Waschuk SA, Elton EA, Darabie AA, et al. Cellular membrane composition defines A β -lipid interactions. *J Biol Chem*, 2001, 276: 33561-33568.
- Meer GV. The different hues of lipid rafts. *Science*, 2002, 296: 855-857.
- Razani B, Engelman JA, Wang XB. Caveolin-1 null mice are viable but show evidence of hyperproliferative and vascular abnormalities. *J Biol Chem*, 2001, 276: 38121-38138.
- Anderson RG, Jacobson K. A role for lipid shells in targeting proteins to caveolae, rafts, and other lipid domains. *Science*, 2002, 296: 1821-1825.
- Engelman JA, Zhang XL, Lisanti MP. Genes encoding human caveolin-1 and -2 are co-localized to the D7S522 locus(7q31. 1), a known fragile site (FRA7G) that is frequently deleted in human cancers. *FEBS Lett*, 1998, 436: 403.
- Chene L, Giroud C, Desgrandchamps F, et al. Extensive analysis of the 7q31 region in human prostate tumors supports TES as the best candidate tumor suppressor gene. *Int J Cancer*, 2004, 111: 798-804.
- Fucci G, Ravid D, Reich R, et al. Caveolin-1 inhibits anchorage independent growth, anoikis and invasiveness in MCF-7 human breast cancer cells. *Oncogene*, 2002, 21: 2365-2375.
- Mineo C, Gill GN, Anderson RG. Regulated migration of epidermal growth factor receptor from caveolae. *J Biol Chem*, 1999, 274: 30636-30643.
- Engelman JA, Lee RJ, Karnezis A. Reciprocal regulation of neu tyrosine kinase activity and caveolin-1 protein expression in vitro and in vivo. Implications for human breast cancer. *J Biol Chem*, 1998, 273: 20448-20455.
- Grande-Garcia A, Echarri A, de Rooij J, et al. Caveolin-1 regulates cell polarization and directional migration through Src ki-
- nase and Rho GTPases. *J Cell Biol*, 2007, 177: 683-694.
- Engelman JA, Zhang XL, Razani B, et al. p42/44 MAP Kinase-dependent and -independent signaling pathways regulate caveolin-1 gene expression. *J Biol Chem*, 1999, 274: 32333-32341.
- Galbiati F, Volonté D, Liu J, et al. Caveolin-1 expression negatively regulates cell cycle progression by Inducing G(0)/G(1) arrest via a p53/p21(WAF1/Cip1)-dependent mechanism. *Mol Biol Cell*, 2001, 12: 2229-2244.
- Park DS, Razani B, Lasorella A. Evidence that Myc isoforms transcriptionally repress caveolin-1 gene expression via an INR-dependent mechanism. *Biochemistry*, 2001, 40: 3354-3362.
- Patra SK, Bettuzzi S. Epigenetic DNA-methylation regulation of genes coding for lipid raft-associated components; a role for raft proteins in cell transformation and cancer progression. *Oncol Rep*, 2007, 17: 1279-1290.
- Lu Z, Hunter T. Wnt-independent beta-catenin transactivation in tumor development. *Cell Cycle*, 2004, 3: 571-573.
- Liu J, Lee P, Galbiati F, et al. Caveolin-1 expression sensitizes fibroblastic and epithelial cells to apoptotic stimulation. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2001, 280: C823-835.
- Gargalovic P, Dory L. Cellular apoptosis is associated with increased caveolin-1 expression in macrophages. *J Lipid Res*, 2003, 44: 1622-1632.
- Peterson TE, Guicciardi ME, Gulati R, et al. Caveolin-1 can regulate vascular smooth muscle cell fate by switching platelet-derived growth factor signaling from a proliferative to an apoptotic pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 2003, 23: 1521-1527.
- Lee KW, Liu B, Ma L, et al. Cellular internalization of insulin like growth factor binding protein-3. *J Biol Chem*, 2004, 279: 469-476.
- Lee SW, Reimer CL, Oh P, et al. Tumor cell growth inhibition by caveolin re-expression in human breast cancer cells. *Oncogene*, 1998, 16: 1391-1397.
- Lin SY, Yeh KT, Chen WT, et al. Promoter CpG methylation of caveolin-1 in sporadic colorectal cancer. *Anticancer Res*, 2004, 24: 1645-1650.
- Torres VA, Tapia JC, Rodriguez DA, et al. E-cadherin is required for caveolin-1-mediated down-regulation of the inhibitor of apoptosis protein survivin via reduced beta-catenin-Tcf/Lef-dependent transcription. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 7703-7717.
- Sahasrabuddhe AA, Ahmed N, Krishnasatry MV. Stress-induced phosphorylation of caveolin-1 and p38, and down-regulation of EGF and ERK by the dietary lectin jacalin in two human carcinoma cell lines. *Cell Stress Chaperones*, 2006, 11: 135-147.
- Bender FC, Reymond MA, Bron C, et al. Caveolin-1 levels are down-regulated in human colon tumors, and ectopic expression of caveolin-1 in colon carcinoma cell lines reduces cell tumorigenicity. *Cancer Res*, 2000, 60: 5870-5878.
- Kim HA, Kim KH, Lee RA. Expression of caveolin-1 is correlated with Akt-1 in colorectal cancer tissues. *Exp Mol Pathol*, 2006, 80: 165-170.
- Fine SW, Lisanti MP, Galbiati F, et al. Elevated expression of caveolin-1 in adenocarcinoma of the colon. *Am J Clin Patho*, 2001, 115: 719-724.

(收稿日期:2008-04-29)

(本文编辑:王立明)