

·放射生物学·

整合素介导的细胞信号转导与肿瘤辐射敏感性

金问森 金一尊

【摘要】 整合素作为重要的细胞黏附分子,可介导细胞的信号转导,在细胞的黏附、迁移、增殖、分化等生长活动中发挥重要作用。同时,在电离辐射条件下,整合素介导的细胞信号转导可在肿瘤细胞内激活多种蛋白激酶,启动不同的信号通路,调控基因表达,维持肿瘤细胞的存活,降低肿瘤的辐射敏感性。因此,深入了解整合素及其所介导的细胞信号转导途径,有利于新型辐射增敏剂的研究,对肿瘤治疗具有积极意义。

【关键词】 整合素;肿瘤;信号转导;辐射耐受性

【中图分类号】 Q257,R730.55 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)04-0237-03

Signal transduction pathway mediated by integrin and tumor radiosensitivity

JIN Wen-sen, JIN Yi-zun

(The Eighth Laboratory in Institute of Radiation Medicine, Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Integrins are a group of significant cell adhesion molecules and participate in the regulation of critical functions through cellular signal transduction, including cell adhesion, migration, proliferation, differentiation, and so on. The integrin-mediated signaling, meanwhile, may activate a variety of protein kinases after ionizing radiation, and then form different intracellular signal pathways in order to regulate the expression of gene. As consequence, these signal pathways induce the reduction of the radiosensitivity of tumor cells for survival event. To understand integrin-mediated signal transduction, therefore, has the vital influence on the study of radiosensitizer and radiotherapy.

【Key words】 Integrin; Neoplasms; Signal transduction; Radiation tolerance

肿瘤细胞对射线的敏感程度受到多种因素的影响,作为细胞黏附分子(cell adhesion molecules, CAM)的整合素家族可通过其所介导的细胞信号转导途径对肿瘤细胞的辐射敏感性发挥重要作用,因此,研究和评价整合素与肿瘤细胞辐射敏感性之间的关系,将有助于肿瘤的放射治疗。

1 整合素及其所介导的跨膜信号转导

整合素是一类跨膜糖蛋白异二聚体家族,由 α 亚基和 β 亚基以1:1的比例所组成,目前已发现16种 α 亚基和8种 β 亚基,形成至少24种不同的 α 和(或) β -异二聚体,作为细胞外基质(extracellular matrix, ECM)蛋白的结合受体,介导邻近细胞间黏附,并且在细胞迁移、增殖、分化等生长活动中进行信号转导。整合素介导的信号转导作用具有双向性,一方面整合素本身不具有蛋白激酶活性,而是依赖于衔接蛋白募集胞质内各种蛋白激酶,并且与

相关受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)相互作用,将膜外信号转导至细胞内,以调节细胞的有丝分裂并维持细胞生存。同时,整合素还可将细胞内的信号外传至质膜外,调节整合素自身与配体之间的结合^[1-3]。

在细胞信号转导过程中,ECM蛋白与整合素的胞外区结合,在细胞膜表面聚集成簇。整合素 β 亚基的胞内区与多种骨架蛋白相连接,包括 α_2 -辅肌动蛋白、踝蛋白、黏着斑蛋白、张力蛋白、桩蛋白等,这些骨架蛋白与作为细胞骨架的肌动蛋白相互作用,使整合素在ECM蛋白以及各种骨架蛋白之间,于细胞膜的两侧形成焦点黏附斑,作为细胞进行信号转导的结构基础^[4]。信号分子与焦点黏附斑结合后,激活细胞内的各种蛋白激酶进行信号转导,细胞内参与信号转导的主要激酶包括整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK),焦点黏附酶(focal adhesion kinase, FAK)以及磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3-K)等。当这些激酶被激活后,可在细胞内形成多条信号通路。目前了解较为清楚的,主要有FAK信号通路、ILK信号

基金项目:国家自然科学基金项目(30500143)

作者单位:200032上海,复旦大学放射医学研究所第八研究室

通讯作者:金一尊(E-mail: yzjin@shmu.edu.cn)

通路以及由 GTP 酶(GTPase)亚家族中的 Rho、Cdc42 和 Rac 蛋白激活所产生的信号途径等, 这些通路形成复杂的信号转导网络, 在维持细胞生存增殖过程中发挥多种生理功能^[4]。

2 整合素介导辐射信号转导的主要途径

电离辐射可诱导细胞进行信号转导, 产生辐射反应, 整合素在这种信号转导中发挥重要功能。当细胞受到照射后, 会促进 ECM 蛋白与整合素相结合, 形成焦点黏附斑, 进而激活一系列蛋白激酶, 将细胞信号向下游分子传递^[5]。

辐射引起的整合素信号转导在细胞内的传递主要涉及两种蛋白激酶启动的信号通路^[6]。一种依赖于激活 FAK 进行传递, 当整合素与 ECM 配体结合后, 其 β_1 、 β_3 或 β_5 亚基的胞内区与 FAK 的氨基端结合, 导致 FAK 的结构域处于活化状态, 与 Src 激酶(由原癌基因 Src 编码的一类非受体酪氨酸激酶家族)的 SH₂ 结构域结合, 募集 Grb2 蛋白/SOS 蛋白复合体(growth factor receptor-bound protein 2/SOS protein, Grb2/SOS), 启动 Ras /MAPK 通路, 激活各种转录因子, 以调节各类相关基因的表达^[5, 7]。同时 FAK 的活化可促进桩蛋白的 Tyr³¹ 和 Tyr¹⁸¹ 磷酸化以及 p130cas 的活化, 进而激活 c-Jun 氨基末端激酶(c-jun N-terminal kinase, JNK) 通路, 增强 ECM 蛋白纤维连接素(fibronectin, FN)的作用, 使细胞避免“失巢凋亡”的发生, 维持细胞存活。p130cas 的磷酸化还可通过 Crk 或 Nck 接头蛋白的作用, 增强 Ras/MAPK 通路的转导, 增加细胞对辐射的抵抗作用^[8, 9]。

另一种胞内信号传递通路为激活 ILK, 使丝氨酸/苏氨酸激酶(serine/threonine protein kinase, Akt) 中的 Ser⁴⁷³、Thr³⁰⁸ 磷酸化激活和糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β)中 Ser⁹ 磷酸化失活, Akt 可抑制效应性 caspase9 和 Bad 蛋白的活性, 使细胞避免凋亡。而 GSK-3 β 的抑制可造成细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)水解作用的下降以及核因子- κ B、激活蛋白 1(activator protein 1, AP-1)的基因转录^[10, 11]。此外, ILK 还可以促进 β -连环蛋白进入细胞核内, 对 cyclin D1 启动子进行调控。目前已证实高表达的 ILK 可以导致 cyclin D1 表达的升高并激活 CDK4 和 cyclin E 等相关激酶, 同时造成 pRb 的超磷酸化, 使受损细胞能够通过细胞周期检查点, 继续进行有丝分裂, 减少细胞凋亡的产

生^[5]。另外, ILK 与桩蛋白以及双锌指结构域蛋白 PINCH-1、PINCH-2 的相互作用, 促进肌动蛋白张力纤维的聚集^[12], 维持细胞的结构和功能。然而, 持续高表达的 ILK 在肿瘤细胞辐射敏感性中的作用尚存有争议^[13]。

总之, 上述胞内信号转导通路并行存在, 相互联系, 共同转导辐射信号, 促使细胞对射线的损伤产生反应。

3 整合素调控肿瘤的辐射敏感性

在肿瘤细胞中, 整合素介导的细胞信号转导途径可从不同水平上对肿瘤细胞辐射敏感性进行调控, 包括 ECM 蛋白中纤维粘连蛋白(fibronectin, FN)和层粘连蛋白(laminin, LN)表达的上升, 整合素表达水平的增加以及与 ECM 蛋白亲和力升高, 转导通路中各种蛋白激酶分子的变化等。

在 240 keV 的 X 射线照射后, 多种肿瘤细胞表面的 β_1 -整合素表达水平在 48 h 内升高 1.1 倍~2.7 倍, 并且与 FN 的亲合力明显增强, 肿瘤细胞的存活数目增加^[14]。A-172 和 U138 脑胶质瘤细胞经射线诱导后, β_1 -整合素的表达水平分别为对照组 1.3~1.7 倍和 1.1~1.3 倍, β_3 -整合素水平分别上升 0.73~1.31 倍和 0.65~0.92 倍, 并且随着照射剂量的增加而升高。通过 RNA 干扰技术使 β_1 -或 β_3 -整合素的表达沉默, 则细胞在照射后的存活分数急剧下降^[15]。上述研究结果说明, 整合素的表达水平以及与 FN 的亲合力对维持肿瘤细胞在照射后的存活具有重要作用。Abdollahi 等^[16]采用 ⁶⁰Co γ 射线照射人脐血管内皮细胞(human umbilical vascular endothelial cell, HUVEC)后, 观察到 $\alpha_v\beta_3$ 表达升高, 将 HUVEC 与整合素拮抗剂 S247 相互作用后进行照射, 则细胞存活能力下降, 进而将 HUVEC 与前列腺癌 PC3 细胞共同培养, 在 S247 作用后进行照射, 则 PC3 细胞的存活率减少, 并且在实验明胶基质中的浸润能力丧失, HUVEC 的血管形成能力下降, 从而推论如果对整合素的作用进行抑制, 不但能够直接增加肿瘤细胞的辐射敏感性, 还可提高肿瘤滋养血管对射线的敏感性, 以利于肿瘤的放射治疗。类似研究结果已在整体实验中得到验证, 在前列腺癌与胶质瘤的裸鼠动物模型中, S247 与放疗相结合, 可显著抑制肿瘤组织生长, 促进血管内皮细胞凋亡, 减少肿瘤滋养血管数量。Burke 等^[17]应用放

射免疫内照射结合整合素抑制剂西仑吉肽(cilengitide, EMD121974), 在离体和整体实验条件下, 均观察到肿瘤及肿瘤血管内皮细胞对⁹⁰Y β射线敏感性的增加。

作为整合素信号通路中两种重要的蛋白激酶FAK和ILK, 对肿瘤细胞辐射敏感性也具有重要作用。在肺癌A549细胞接受X射线照射后, FAK的Tyr³⁹⁷磷酸化水平上升2.1倍, Tyr⁹²⁵磷酸化升高1.7倍, 导致信号下游靶分子桩蛋白表达水平增加1.1倍, 桩蛋白和p130cas的磷酸化水平均显著升高, 进而激活Ras/MAPK通路, 提示细胞黏附能力增加并抑制辐射诱导细胞凋亡的产生^[7]。关于ILK对肿瘤细胞辐射敏感性的影响, 目前存在不同的观点, 多数实验结果和资料显示, 肿瘤细胞经照射后, 整合素水平的升高会导致ILK的磷酸化增强, 造成信号下游蛋白激酶B/Akt的激活和GSK-3β的抑制, 进而通过其他信号分子的调控来维持细胞的存活^[5,18,19]。然而, Cordes等^[19]对转染ILK高表达基因的A549细胞进行照射后发现, 与转染野生型ILK基因和空载体的A549细胞相比, ILK高表达细胞的存活分数显著下降, 表现对辐射敏感程度的明显升高, 反之采用ILK干扰RNA技术可引起肿瘤细胞辐射敏感性的降低。同时, 高表达ILK的A549细胞会出现Akt和GSK-3β表达水平及磷酸化的紊乱。推测这种现象可能与ILK的持续性高表达, 造成GSK-3β磷酸化异常, 以致在射线作用后引起ILK信号通道的失调有关。因此, ILK在调控肿瘤细胞辐射敏感性中的作用及详细机制尚有待进一步研究, 但总体上整合素介导的细胞信号转导途径的激活有利于肿瘤细胞在照射后的继续存活, 造成肿瘤辐射敏感性的减低。

4 结语

根据目前研究结果, 整合素介导的信号转导通路异常与肿瘤的生长、转移、浸润以及肿瘤血管的生成关系密切, 并可导致肿瘤对放、化疗产生抗性作用, 充分研究和整合素与肿瘤细胞辐射敏感性之间的关系, 将有利于新型辐射增敏剂靶点的寻找, 对提高肿瘤的放疗效果具有非常重要的意义。

参 考 文 献

1 Cordes N, Beinke C, Plasswilm L, et al. Irradiation and various

- cytotoxic drugs enhance tyrosine phosphorylation and β1-integrin clustering in human A549 lung cancer cells in a substratum-dependent manner in vitro. *Strahlenther Onkol*, 2004, 180 (3): 157-164.
- 2 Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*, 2002, 110(6): 673-687.
- 3 Ridley AJ, Schwartz MA, Burridge K, et al. Cell migration: integrating signals from front to back. *Science*, 2003, 302(5651): 1704-1709.
- 4 Martin KH, Slack JK, Boerner SA, et al. Integrin connections map: to infinity and beyond. *Science*, 2002, 296(5573): 1652-1653.
- 5 Cordes N, Meineke V. Integrin signalling and the cellular response to ionizing radiation. *J Mol Histol*, 2004, 35(3): 327-337.
- 6 Cordes N, Blaese MA, Meineke V, et al. Ionizing radiation induces up-regulation of β1-integrin in human lung tumor cell lines in vitro. *Int J Radit Biol*, 2002, 78(5): 347-357.
- 7 Beinke C, Beuingen DV, Cordes N. Ionizing radiation modulates the expression and tyrosine phosphorylation of the focal adhesion-associated proteins focal adhesion kinase (FAK) and its substrates p130cas and paxillin in A549 human lung carcinoma cells in vitro. *Int J Radit Biol*, 2003, 79(9): 721-731.
- 8 Almeida EAC, Ilic D, Han Q, et al. Matrix survival signaling; from fibronectin via focal adhesion kinase to c-Jun NH-terminal kinase. *J Cell Biol*, 2000, 149(3): 741-754.
- 9 Wei L, Yang A, Zhang X, et al. Anchorage-independent phosphorylation of p130 (Cas) protects lung adenocarcinoma cells from anoikis. *J Cell Biochem*, 2002, 87(4): 439-449.
- 10 Grimes CA, Jope RS. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3beta in cellular signaling. *Prog Neurobiol*, 2001, 65 (4): 391-426.
- 11 Hoefflich KP, Luo J, Rubie EA, et al. Requirement for glycogen synthase kinase-3beta in cell survival and NF-kappaB activation. *Nature*, 2000, 406(6791): 86-90.
- 12 Zhang Y, Chen K, Tu Y, et al. Assembly of the PINCH-ILK-CH-ILKBP complex precedes and is essential for localization each component to cell-matrix adhesion sites. *J Cell Sci*, 2002, 115 (Pt24): 4777-4786.
- 13 Cordes N. Overexpression of hyperactive integrin-linked leads to increased cellular radiosensitivity. *Cancer Res*, 2004, 64 (16): 5683-5692.
- 14 Cordes N, Meineke V. Cell adhesion-mediated radioresistance (Cam-RR): extracellular matrix-dependent improvement of cell survival in human tumor and normal cells in vitro. *Strahlenther Onkol*, 2003, 179(5): 337-344.
- 15 Cordes N, Hansmeier B, Meineke V. Irradiation differentially affects substratum-dependent survival adhesion, and invasion of glioblastoma cell lines. *Br J Cancer*, 2003, 89(11): 2122-2132.
- 16 Abdollahi A, Griggs DW, Zieher H, et al. Inhibition of αvβ3 integrin survival signaling enhances antiangiogenic and antitumor effects of radiotherapy. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(17): 6270-6279.
- 17 Burke PA, Denardo SJ, Miers LA, et al. Combined modality radioimmunotherapy. Promise and peril. *Cancer*, 2002, 94(4 Suppl):1320-1331.
- 18 Huber PE, Bischof M, Jenne J, et al. Trimodal cancer treatment: beneficial effects of combined antiangiogenesis, radiation, and chemotherapy. *Cancer Res*, 2005, 65(9): 3643-3655.
- 19 Edwards E, Geng L, Tan J, et al. Phosphatidylinositol3-kinase/Akt signaling in the response of vascular endothelium to ionizing radiation. *Cancer Res*, 2002, 62(16): 4671-4677.

(收稿日期: 2006-03-20)