

文章编号: 1004-0374(2010)08-0797-04

CTHRC1 与肿瘤关系的研究进展

王 萍^{1,2}, 房静远^{1*}

(1 上海交通大学医学院附属仁济医院上海市消化疾病研究所, 上海 200001;

2 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化内科, 上海 200011)

摘要: 胶原三股螺旋重复蛋白 1 基因是从大鼠正常动脉和受损动脉中筛选出的差异表达基因, 其通过 TGF- β 和 Wnt/PCP 通路发挥作用, 使胶原生成减少, 促进细胞迁移。在多种肿瘤中发现 CTHRC1 异常表达, 并与肿瘤转移相关。该文就 CTHRC1 与肿瘤的关系作一综述。

关键词: 胶原三股螺旋重复蛋白 1; 肿瘤; TGF- β 通路; Wnt/PCP 通路

中图分类号: R730.23 **文献标识码:** A

The relationship between CTHRC1 and cancer

WANG Ping^{1,2}, FANG Jing-yuan^{1*}

(1 Shanghai Institute of Digestive Diseases, Renji Hospital, Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200001, China; 2 Department of Gastroenterology, No.9 Peoples' Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China)

Abstract: CTHRC1 gene was first found in a screening for differentially expressed sequences in balloon-injured versus normal rat arteries, which is involved in TGF- β signaling and Wnt signaling, limiting collagen matrix deposition and promoting cell migration. Aberrant expression of CTHRC1 is widely present in human solid cancers and seems to be associated with cancer tissue invasion and metastasis. In this article, authors reviewed the relationship between CTHRC1 and cancer.

Keywords: collagen triple helix repeat containing 1; cancer; TGF- β signaling; Wnt/PCP signaling

胶原三股螺旋重复蛋白 1 (collagen triple helix repeat containing 1, CTHRC1) 基因是动脉损伤过程中筛选出的一种过表达基因, CTHRC1 可减少胶原沉积, 并促进细胞迁移^[1]。近年来发现, CTHRC1 在黑色素瘤等实体肿瘤中异常表达, 并与肿瘤的转移有关。

1 CTHRC1 的结构特征

CTHRC1 基因定位于 8q22.3, 含有 4 个外显子和 4 个内含子, DNA 长度为 11.4 kb, 转录产生 1.2 kb 的 mRNA, 编码产物是一个由 243 个氨基酸残基组成、相对分子质量为 25 k~30 k 的分泌性糖蛋白, 主要分布于细胞间隙。CTHRC1 还存在于血管、胃肠道和子宫平滑肌, 以及某些神经元的胞浆中^[2]。人类和动物的 CTHRC1 蛋白具有 92% 的同源

性^[3], 说明 CTHRC1 在进化上高度保守。CTHRC1 蛋白包含具有细胞外分泌功能的 N-末端信号肽以及由 36 个氨基酸组成的胶原三螺旋列以及 C-末端球状结构^[3]。许多蛋白质需要经过酶解加工过程才能产生活性分子。Leclair 等^[2]研究发现 CHO 细胞分泌的大部分 CTHRC1 存在信号肽; 加入纤维蛋白酶抑制剂后, PAC1 细胞的培养液中可以检测到未经加工的 CTHRC1 蛋白, 以上结果说明 CTHRC1 可能以未剪切的形式分泌。此外, 与未加工的 CTHRC1 比较, 水解产生的蛋白能更有效地抑制原胶原的合

收稿日期: 2010-01-05; 修回日期: 2010-02-01

基金项目: 国家高技术发展计划 (“863” 计划)
(2006AA02A402)

*通讯作者: Email: jingyuanfang@yahoo.com

成,提示CTHRC1或许通过蛋白酶解加工而获得生物学活性。

2 CTHRC1的功能和表达调控

*CTHRC1*是通过抑制性消减杂交法从大鼠的损伤动脉和正常动脉中筛选出的差异表达基因。在正常动脉组织中没有发现*CTHRC1*表达,但在大鼠动脉的损伤处、重塑动脉外膜的成纤维细胞和新生内膜的平滑肌细胞中都有短暂表达^[1]。*CTHRC1*在血管重塑过程中,抑制TGF信号通路,减少胶原沉积,促进细胞迁移。此外,有文献报道*CTHRC1*还能够增强Wnt和受体的相互作用而选择性激活PCP通路^[4,5]。接下来具体讲述*CTHRC1*在所参与的信号通路中的作用。

2.1 CTHRC1与TGF/BMP通路

TGF- β 是一种具有广泛生物学活性的细胞因子,相对分子质量约为25 k。脊椎动物TGF- β 超家族包括TGF- β 、活动素(activin)和骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)。在哺乳动物体内,存在三种TGF- β s异构体,分别为TGF- β 1、TGF- β 2及TGF- β 3。当TGF- β 与受体结合时,受体得以活化。活化的受体催化一类重要的转录因子Smads发生丝氨酸磷酸化,磷酸化的Smads分子形成同源寡聚体或异源寡聚体后进入细胞核,调控相应基因的转录。TGF β /Smad信号通路参与调节增殖、分化、迁移和凋亡等多种细胞反应。Smads与信号通路的特异性有关:Smad2/3介导TGF- β 和活动素的信号;Smad1/5/8则介导BMP的信号。当Smads功能发生异常时,将会影响TGF- β 信号的传导,从而导致疾病的发生^[6]。

Leclaire等^[7]报道,通过免疫组化方法发现在损伤动脉的外膜中TGF- β 1表达增多,且CTHRC1阳性区域与其一致;在体外实验中,TGF- β 1和BMP4可以诱导NIH3T3细胞的CTHRC1转录水平和蛋白水平增加^[1],以上所述说明TGF- β 1、BMP4可能调控CTHRC1表达。而后发现该基因的启动子区域存在Smad结合位点,则提示TGF- β 信号通路可能通过Smad蛋白调控*CTHRC1*基因转录^[3]。进一步研究发现,在过表达CTHRC1的PAC1细胞中磷酸化Smad2/3减少,I型胶原 β 1/ β 2和III型 β 1等主要间质胶原的mRNA水平减少,但磷酸化Smad1/5/8水平没有变化^[7,8]。对过表达CTHRC1的转基因小鼠建立颈动脉断流模型发现体内结果与体外现象一致,即受损动脉中活化Smad2/3的减少、I型胶原沉积减少。

以上实验结果提示CTHRC1通过减少Smad2/3活化以抑制TGF信号通路,减少胶原沉积。但是,在小牛上皮细胞中则没有发现上述现象,说明CTHRC1的活性可能具有细胞类型特异性。

2.2 CTHRC1与Wnt/PCP通路

Wnt信号通路是一个复杂的调控网络,广泛存在于无脊椎动物和脊椎动物中,是一类在物种进化过程中高度保守的信号通路。Wnt信号在动物胚胎的早期发育、器官形成、组织再生和其它生理过程中,具有至关重要的作用。如果这条信号通路外的关键蛋白发生突变,可以引起信号异常活化,进而导致癌症的发生。目前认为Wnt信号通路包括三个分支:经典Wnt信号通路,通过 β -Catenin激活基因转录;Wnt/PCP通路(planner cell polarity pathway),通过小G蛋白激活JNK(c-Jun N-terminal kinase)来调控细胞骨架重排;Wnt/ Ca^{2+} 通路,通过释放胞内 Ca^{2+} 来影响细胞黏连和相关基因表达^[9,10]。

Wnt信号分子在细胞水平通过激活不同的细胞内信号通路发挥多种功能。脊椎动脉的Wnt蛋白可以分成2组:一组包括Wnt1、Wnt3a和Wnt8等经典Wnt蛋白,激活经典Wnt通路;另一组包括Wnt5a和Wnt11,为非经典Wnt蛋白,激活Wnt/PCP通路。Wnt通过Fzd受体与通路特异性复合受体结合,进行信号传导。LRP5和LRP6是经典通路的复合受体,而Ror2是非经典通路的复合受体。但是Wnt蛋白如何选择性激活信号通路的具体机制目前尚不清楚。Yamamoto等^[4]发现在HEK293T细胞中,CTHRC1激活PCP通路,同时抑制经典通路。CTHRC1锚定于细胞表面,结合Wnt、Fzd、Ror2蛋白,即通过形成CTHRC1-Wnt-Fzd/Ror2复合体以增强Wnt蛋白和Fzd/Ror2的相互作用,进而激活PCP通路。因此,CTHRC1作为Wnt辅助因子通过增强Wnt和受体的相互作用,选择性激活PCP通路。

3 CTHRC1与肿瘤的关系

*CTHRC1*最早是从大鼠的受损动脉中筛选出来一种过表达基因,其存在于受损动脉外膜的成纤维细胞和新内膜的平滑肌细胞中,增加CTHRC1表达可以促进细胞迁移和抑制胶原合成。因此,推测CTHRC1参与受损后血管重塑的组织修复过程。大量证据表明组织修复和肿瘤的发生关系密切^[11-13]。Tang等^[3]通过cDNA芯片技术分析发现,除了睾丸癌和前列腺癌,CTHRC1在多种实体肿瘤中广泛表

达, 并且可能与肿瘤组织侵袭转移有关。肿瘤的转移依赖于多种因素, 包括肿瘤细胞侵入基质及穿透血管、淋巴管并在其中迁移的能力。通过划痕修复实验发现过表达 CTHRC1 的细胞到达损伤部位的速度明显快于对照组细胞, 并在肿瘤细胞中发现 CTHRC1 具有同样的作用^[7]。在转移性强的肿瘤中, CTHRC1 的表达水平增加, 提示其可能在肿瘤发展过程中增强细胞侵袭力。由于细胞外基质组成影响细胞的转移、侵袭, 因此, CTHRC1 还可能通过减少胶原沉积, 促进肿瘤细胞转移、侵袭。

3.1 乳腺癌

Allinen 等^[14]通过 cDNA 芯片和原位杂交方法发现乳腺癌某些基质细胞表达 *CTHRC1* mRNA, 首次提出了该基因与肿瘤相关。Turashvili 等^[15]对 10 例正常的乳腺导管和小叶细胞手术标本, 以及 5 例乳腺导管癌 (IDC) 及乳腺小叶癌 (ILC) 进行显微切割, 提取组织 RNA 进行标记和 PCR 扩增, 然后采用 Affymetrix U133 Plus 2.0 芯片筛选出 7 种差异表达的基因 (*CDH1*、*EMP1*、*DDR1*、*DVL1*、*KRT5*、*KRT6*、*KRT17*), 并通过 PCR 鉴定 *CTHRC1* 在 IDC 及 ILC 中的差异表达, 提示了其在乳腺癌发生中具有重要的作用。

3.2 黑色素瘤

Tang 等^[3]通过免疫组化法观察到 CTHRC1 在非侵袭性的黑色素瘤中缺乏表达, 而在具有侵袭性的原发性黑色素瘤中大量表达, 在转移性的黑色素瘤组织中也发现其表达增加。此外, 通过 siRNA 干扰技术发现黑色素瘤细胞的侵袭力显著降低, 说明 CTHRC1 在黑色素瘤的转移过程中具有重要作用。CTHRC1 调控黑色素瘤细胞侵袭的机制尚不明确。大量资料说明肿瘤微环境在肿瘤细胞生长、侵袭和转移过程中发挥着核心作用^[16-18]。其中重要的一种基质细胞是成纤维细胞 (或者称为肿瘤相关成纤维细胞)。在黑色素瘤细胞的培养液中存在 CTHRC1 蛋白, 在过表达 CTHRC1 的小鼠成纤维细胞中检测不出 I 型胶原^[1], 因此, 推测黑色素瘤细胞产生的过量 CTHRC1 可能以分泌形式作用于细胞外基质中的成纤维细胞, 减少 I 型胶原等形成, 创造肿瘤侵袭、生长和转移所需要的细胞外环境。

3.3 肝癌

通过 Northern blot、RT-PCR 和荧光定量技术检测 14 例肝癌患者, 其中 11 例存在癌组织 mRNA 表达水平高于癌旁组织, 8 种肝癌细胞株中 5 种肝癌细胞株存在着 *CTHRC1* 的高表达。当 *CTHRC1* 过表

达后, 细胞的迁移及侵袭能力显著增强 ($P < 0.001$), 说明该基因可能在肝癌转移中起着重要的作用^[19]。

3.4 食管癌

应用免疫组织化学法分析 46 例人食管鳞癌组织及 10 例食管正常组织中 CTHRC1 蛋白的表达情况, 发现 CTHRC1 在食管鳞癌组织中有表达增强, 为 56.5% (26/46), 而在 10 例正常食管组织中均未见表达。经统计, CTHRC1 在淋巴结转移组中的阳性表达率显著高于无淋巴结转移组 ($P < 0.05$), CTHRC1 表达与年龄、性别、肿瘤大小及病理类型无明显相关性 ($P > 0.05$)。因此, CTHRC1 可能与食管鳞癌侵袭、转移相关, 有望成为食管鳞癌新的治疗靶点^[20]。

3.5 肠癌

李靖涛等^[21]采用免疫组织化学方法检测 VEGF-C 和 CTHRC1 的表达, 并分析它们的表达与患者年龄、性别以及直肠癌分化程度、临床分期及淋巴结转移的关系, 发现 CTHRC1 主要分布于肿瘤细胞中, 其表达与直肠癌分化程度、临床分期密切相关 ($P < 0.05$)。因此, CTHRC1 在直肠癌侵袭转移中可能起着重要作用, 其可作为判定直肠癌生物学行为的参考指标。

4 展望

综上所述, *CTHRC1* 是动脉受损过程中发现的一个基因, 并在多种人类肿瘤中异常表达, 参与侵袭、转移等肿瘤发生过程。目前存在的疑问有: 在肿瘤组织中何种机制调控 CTHRC1 的表达; CTHRC1 通过哪种途径促进肿瘤转移; 在肿瘤发生过程中 CTHRC1 是否还具有促进细胞分化、增殖或凋亡等作用; 由于 CTHRC1 是分泌性蛋白, 广泛分布于细胞间隙, 因此其除了作用于肿瘤细胞, 是否还作用于肿瘤细胞周围的成纤维细胞等基质细胞, 影响后者的胶原合成; 除了肿瘤细胞, 细胞间隙中的 CTHRC1 蛋白是否还来源于成纤维细胞等基质细胞。相信通过对 *CTHRC1* 基因的深入研究, 有助于进一步阐明肿瘤转移的分子机制, 为肿瘤转移靶向分子干预提供理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] Pyagay P, Heroult M, Wang Q, et al. Collagen triple helix repeat containing 1, a novel secreted protein in injured and diseased arteries, inhibits collagen expression and promotes cell migration. *Circ Res*, 2005, 96(2): 261-8
- [2] Leclair RJ, Wang Q, Benson MA, et al. Intracellular localization of Cthrc1 characterizes differentiated smooth muscle.

- Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(7): 1332-8
- [3] Tang L, Dai DL, Su M, et al. Aberrant expression of collagen triple helix repeat containing 1 in human solid cancers. Clin Cancer Res, 2006, 12(12): 3716-22
- [4] Yamamoto S, Nishimura O, Misaki K, et al. Cthrc1 selectively activates the planar cell polarity pathway of Wnt signaling by stabilizing the Wnt-receptor complex. Dev Cell, 2008, 15(1): 23-36
- [5] Kelley MW. Leading Wnt down a PCP path: Cthrc1 acts as a coreceptor in the Wnt-PCP pathway. Dev Cell, 2008, 15(1): 7-8
- [6] Leivonen SK, Kähäri VM. Transforming growth factor- β signaling in cancer invasion and metastasis. Int J Cancer, 2007, 121(10): 2119-24
- [7] LeClair RJ, Durmus T, Wang QZ, et al. Cthrc1 is a novel inhibitor of transforming growth factor- β signaling and neointimal lesion formation. Circ Res, 2007, 100(6): 826-33
- [8] LeClair RJ, Lindner V. The role of collagen triple helix repeat containing 1 in injured arteries, collagen expression, and transforming growth factor β signaling. Trends Cardiovasc Med, 2007, 17(6): 202-5.
- [9] Polakis P. The many ways of Wnt in cancer. Curr Opin Genet Dev, 2007, 17(1): 45-51
- [10] Klaus A, Birchmeier W. Wnt signaling and its impact on development and cancer. Nat Rev Cancer, 2008, 8(5): 387-98
- [11] Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. N Engl J med, 1986, 315(26): 1650-9
- [12] Beachy PA, Karhadkar SS, Berman DM. Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. Nature, 2004, 432(7015): 324-31
- [13] Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. Nature, 2002, 420(6917): 860-7
- [14] Allinen M, Beroukhi R, Cai L, et al. Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer. Cancer Cell, 2004, 6(1): 17-32
- [15] Turashvili G, Bouchal J, Baumforth K, et al. Novel markers for differentiation of lobular and ductal invasive breast carcinomas by laser microdissection and microarray analysis. BMC Cancer, 2007, 7: 55
- [16] Micke P, Ostman A. Tumour-stroma interaction: cancer-associated fibroblasts as novel targets in anticancer therapy? Lung Cancer, 2004, 45(Suppl 2): S163-75
- [17] Kataoka H, Tanaka H, Nagaike K, et al. Role of cancer cell-stroma interaction in invasive growth of cancer cells. Hum Cell, 2003, 16(1): 1-14
- [18] Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. Nature, 2004, 432(7015): 332-7
- [19] 万晓桢, 覃文新, 谭宁, 等. *CTHRC1* 基因在人肝癌中高表达并促进 MHCC97L 肝癌细胞的转移. 肿瘤, 2007, 6: 476-9
- [20] 刘伟, 施瑞华, 朱宏, 等. ITGA6、CTHRC1 在食管鳞癌中的表达及临床意义. 南京医科大学学报(自然科学版), 2009, 4: 508-11
- [21] 李靖涛, 赵洪川, 高春, 等. CTHRC1 和 VEGF-C 在直肠癌组织中的表达及相关性. 世界华人消化杂志, 2009, 17(13): 1318-23