

DOI: 10.13376/j.cbbs/2014043

文章编号: 1004-0374(2014)03-0295-07

维甲酸及其受体与肿瘤关系的研究进展

孙宇强¹, 王 雪², 关兴芳³, 李德胜¹, 舒晓宏², 李墨林^{4*}

(1 大连医科大学2009级七年制学生, 大连 116044; 2 大连医科大学药学院, 大连 116044;

3 大连医科大学2010级医疗系英文班学生, 大连 116044; 4 大连医科大学病理生理学教研室, 大连 116044)

摘 要: 维甲酸 (retinoic acid, RA) 是维生素 A 的活性代谢产物, 全反式维甲酸 (all-trans-retinoic acid, ATRA)、13- 顺式维甲酸 (13-cis-retinoic acid, 13-cRA) 和 9- 顺式维甲酸 (9-cis-retinoic acid, 9-cRA) 等是其同分异构体。维甲酸通过与其受体包括维甲酸受体和维甲酸 X 受体结合调控靶基因表达, 在胚胎发育和细胞的生长及分化过程中发挥重要作用。全反式维甲酸治疗急性早幼粒白血病开创了分子靶向药物诱导肿瘤细胞分化治疗的先河, 目前研究发现, 维甲酸及其受体与肿瘤细胞的分化、增殖或凋亡等密切相关。就维甲酸及其受体与肿瘤关系的研究进展进行综述, 为进一步研究奠定基础。

关键词: 维甲酸; 受体; 靶基因; 调控; 肿瘤

中图分类号: Q26; R73 **文献标志码:** A

Advanced progress on the relationship between RA and its receptors and malignant tumors

SUN Yu-Qiang¹, WANG Xue², GUAN Xing-Fang³, LI De-Sheng¹, SHU Xiao-Hong², LI Mo-Lin^{4*}

(1 2009 Seven-year Program Medical Students, Dalian Medical University, Dalian 116044, China;

2 College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116044, China; 3 2010 Medical Students of Dalian Medical University, Dalian 116044, China; 4 Department of Pathophysiology, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

Abstract: Retinoic acid is an active derivative of vitamin A. ATRA, 13-cRA and 9-cRA are the isomers of retinoids. Combining with RARs and RXRs, RA plays important roles in embryonic development, cell growth and differentiation through regulating the target gene expression. ATRA has been successfully used in the differentiation therapy of APL (acute promyelocytic leukemia) in clinical. Current studies have found that the disturbance of RA and its receptors were also related to differentiation, proliferation or apoptosis of tumor cells. To develop novel mechanisms-based differentiation therapy, the relationship between RA or its receptors and tumors will be summarized in this review.

Key words: retinoic acid; receptors; target genes; regulation; tumors

维甲酸类药物是维生素 A 的天然或合成的衍生物, 根据其分子中的极性基团及侧链不同, 维甲酸类药物包括多种同分异构体, 如全反式维甲酸 (all-trans-retinoic acid, ATRA)、13- 顺式维甲酸 (13-cis-retinoic acid, 13-cRA) 和 9- 顺式维甲酸 (9-cis-retinoic acid, 9-cRA) 等。维甲酸生物学作用的发挥主要是通过与其受体包括维甲酸受体 (RAR) 和维甲酸 X 受体 (RXR) 结合进而调控靶基因表达实现的, 在胚胎发育和细胞的生长及分化过程中发挥重要作用。

维甲酸受体及其信号转导通路失调与肿瘤细胞的分化、增殖或凋亡等密切相关。ATRA 治疗急性早幼粒白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) 开创了分子靶向药物诱导肿瘤细胞分化治疗的先河^[1],

收稿日期: 2013-08-28; 修回日期: 2013-10-14

基金项目: 大连市科技计划项目(2012E15-SF159); 国家自然科学基金基金项目(81072063)

*通信作者: E-mail: molin_li@hotmail.com

本文就维甲酸及其受体与肿瘤关系的研究进展进行综述。

1 概述

1.1 维甲酸类化合物在体内的代谢

维甲酸 (retinoic acid, RA) 又称视黄酸, 是维生素 A 的活性代谢产物。在体内, 脂溶性维生素 A 在小肠中与胆汁酸脂肪分解产物一起被乳化, 于肠上皮细胞吸收并被分泌至淋巴系统, 进一步在肝细胞内水解和再酯化并排入胆汁, 部分被贮存于肝星形细胞内。当机体需要时, 视黄醇可被释放至肝外, 与血浆中的维甲酸结合蛋白 RBP4 结合后, 进一步再结合到 RBP4 受体 (STRA6)。细胞内的维甲酸结合蛋白 I (cellular retinoic acid binding protein, CRABP-I) 将视黄醇 - RBP4 STRA6 复合物从胞浆转运至胞膜, 在视黄醇脱氢酶 (RDHs)、视黄醛脱氢酶 (RALDHs) 作用下氧化生成视黄醛、RA^[2]。后者在同分异构酶的作用下, 以 ATRA、13-cRA 和 9-cRA 等 3 种形式存在并发生相互转化, 其中 ATRA 为主要形式, 是 RA 最为稳定和常见的同分异构体, 分子式是 C₂₀H₂₈O₁₂, 相对分子质量为 30.044 × 10⁴。一般认为, ATRA 具有较强的穿透细胞膜的能力, 还是唯一可进入细胞核的维甲酸分子; 而 13-cRA 穿透细胞膜的能力较低, 具有较高的血浆峰浓度和较长的半衰期。

目前研究证实, RA 通过单纯弥散进入细胞, 并与细胞内的维甲酸结合蛋白 (cellular retinoic acid binding protein, CRABP) 结合, 其包括两种高度同源蛋白 CRABP-I 和 CRABP-II。其中, CRABP-I 在体内广泛表达, 与 CRABP-I 结合的 RA 被转移至内质网, 经微粒体内的细胞色素 P450 酶, 特别是经 CYP26A1 和 CYP26B1 分解代谢, 失活后排出体外。目前研究认为, CRABP-I 提高 CYP26 对维甲酸的代谢效率, 对细胞内 RA 水平的维持起着重要的调节作用, 细胞内 CRABP-I 水平越高, 表明 RA 代谢越快, 甚至不能发挥生物学作用。CRABP-II 主要在皮肤、子宫、卵巢等组织中表达, 与 CRABP-II 结合的 RA 被转运至细胞核, 发挥 RA 的生物学功能。此外, RA 也可与脂氧化酶系统相互作用产生氧自由基, 进而氧化失活。

1.2 RA受体

RA 的受体位于细胞核内, 属于类固醇激素受体家族的成员。依其化学结构及结合配体的特异性不同, 可与维甲酸结合的受体分为维甲酸受体 (retinoic acid receptor, RAR) 和维甲酸 X 受体 (retinoid

x receptor, RXR) 两类, 每类均有 α 、 β 、 γ 3 种亚型, 共 6 种受体蛋白, 每个亚型都有 A~F 6 个结构功能域, 其中, 氨基端 A 和 B 区具有翻译活性, 是不同受体异构体的序列; C 区即 DNA 结合区 (DNA binding domain, DBD), 可与靶基因启动子区的特定 DNA 序列即维甲酸反应元件 (retinoic acid responsive elements, RARE) 结合; E 区包含可与配体结合的区域即配体结合区 (ligand binding domain, LBD)。进入细胞核内的 ATRA 和 13-cRA 只能与 RAR 结合并使之活化, 而 9-cRA 却能结合并活化 RAR 和 RXR 两种受体。RAR/RXR 异二聚体是 RA 信号通路中起作用的功能性复合体。在配体缺乏时, 维甲酸受体在核内以异二聚体的形式 (RAR/RXR) 与 DNA 结合并与转录阻抑蛋白 (或共抑制因子) 相互作用, 表现为转录抑制; 而当配体存在时, RA 与 RAR 的结合使 RAR/RXR 构象改变, 致使其与共抑制因子解聚并暴露出与共激活因子的结合位点, 所形成的复合体募集了拥有组蛋白乙酰转移酶活性的蛋白, 从而使得染色体构象松散, 有利于下游基因的转录。目前研究发现, 其他核受体, 如过氧化物增殖体激活受体 (PPAR)^[3]、维生素 D 受体 (VDR)、甲状腺激素受体 (ThR)、孤儿核受体 (retinoid-related orphan nuclear receptor, ROR) 等均可与 RAR 竞争与 RXR 的结合。

1.3 RA的信号转导通路及其生物学作用

维甲酸与其受体结合后被运输到细胞核内, 通过调控基因转录影响细胞的增殖和分化。因此, RA 的生物学作用是通过 RA 及其受体与特异性的核受体反应元件结合实现的。其中, 维甲酸受体反应元件 (retinoic acid responsive elements, RARE) 是由彼此间隔 2 个或 5 个脱氧核糖核苷酸 (nt) 的直接重复序列 AGGTCA 组成, 简称 DR2 或 DR5; 而 RXRs 的反应元件主要由间隔 1 个脱氧核糖核苷酸 (nt) 的直接重复序列 AGGTCA 组成, 简称 DR1, 目前发现其仅存在于 CRBP II 启动子中。RA 与 RAR/RXR 异二聚体结合后, 通过与靶基因启动子区特异性的 DR2、DR5 或 DR1 结合, 从而调控靶基因的转录及表达。目前研究认为, RAR 是以配体调节方式活化或抑制含有 RARE 靶基因的转录, 是配体依赖性的转录激活因子。其中, RAR α /RXR 异二聚体与靶基因启动子区的 RARE 结合, 调控靶基因转录, 在生物体的胚胎发育和器官形成及维持机体正常生理功能等方面发挥重要作用。因此, RA 是一种典型的细胞分化剂, 但其除通过 RAR α /RXR 诱导与

细胞分化相关基因转录外, 亦参与调控与细胞生长、存活或凋亡及耐药有关的基因如 RAR β 、CYP26、HNF、Hox、CRBP I、CRABP II 等的转录^[4]。目前研究认为, 组织中 CRABP-II/ 脂肪酸结合蛋白 5 (FABP5) 比率影响 RA 对细胞生长和存活的效应。在 CRABP-II/FABP5 高比率的细胞, RA 与 CRABP-II 结合后通过 RAR β 抑制细胞生长; 而在 FABP5/CRABP-II 高比率的细胞, RA 与 FABP5 形成复合体后再与核受体过氧化物酶增殖体激活受体 β/δ (peroxisome proliferator-activated receptor β/δ , PPAR β/δ) 结合, 上调细胞存活增殖通路^[5-6]。因此, 维甲酸亦可影响炎性介质的释放, 对炎症反应起到缓解作用, 是重要的抗炎物质。利用特异性配体 Giannini 等^[7] 研究发现, 维甲酸通过激活 3 种不同同源二聚体来调节神经母细胞瘤 (neuroblastoma, NB) 细胞增殖和分化, 其中, RAR α 介导维甲酸诱导的 NB 细胞分化; RAR β 介导维甲酸诱导的 NB 细胞生长抑制; 而 RAR γ 既介导生长抑制, 又介导形态分化。

2 RA受体在正常及肿瘤组织中的表达

早期研究发现: 维生素 A 缺乏或摄入不足的动物, 其自发性和化学性诱导肿瘤的发生率明显增加, 给予外源性类维生素 A 药物可明显减少化学诱导肿瘤的发生率, 并且维甲酸类药物在动物肿瘤模型中有高效抑制肿瘤发生的作用。流行病学研究亦证实, 维生素 A 的摄入量或其血浆浓度与多种癌症如肺癌、头颈部肿瘤、乳腺癌等的发生成反比关系。Brabender 等^[8] 检测了非小细胞肺癌肿瘤组织中 RARs 及 RXRs 的表达情况发现, 肿瘤组织特别是晚期肿瘤组织中存在 RARs 及 RXRs 表达的下调, 并与肿瘤的发生及预后相关, 提示: 维甲酸活性缺失或反应性降低可能与肿瘤的发生相关。

2.1 RARs

RARs 受体蛋白有 3 种亚型 α 、 β 、 γ , 分别由 17q21、3p24、12q13 染色体基因编码。其中, RAR α 在成人及胚胎全身均有表达; RAR β 主要表达在心脏、肺与肾脏; RAR γ 主要表达在皮肤与关节。人们对 RAR α 的认识主要围绕 PML-RAR α 融合基因在急性早幼粒细胞白血病 (APL) 发生发展中的作用而展开。目前研究表明, RAR α 、RAR β 与细胞的生长分化有密切的联系; 而 RAR γ 则可能与维甲酸耐受以及致畸性有关。

RAR α 信号通路异常与肿瘤的发生有关。目前

研究发现, 多种肿瘤组织中存在 RAR α 、RAR β 或 RAR γ 基因表达的下调, 并与肿瘤患者的恶性程度及其预后有关, 提示, RARs 受体基因具有抑癌基因的特点。由于 90% 以上的 APL 白血病患者都具有特征性染色体易位, 如其中最常见的是 17 号染色体 RAR α 基因与 15 号染色体前髓细胞性白血病基因 (PML) 的易位形成 PML-RAR α 融合蛋白, 其他易位还包括 t(11;17)(q23;q21)、t(5;17)(q35;q12-21)、t(11;17)(q13;q21) 及 t(3;17)(p25;q21) 等, 目前研究认为 17q21 染色体的重排导致 RAR α 基因与其他基因的相互易位产生特征性融合基因或融合蛋白是大多数 APL 的主要致病原因。由于 17q21 的断裂点均发生在 RAR α 基因的第二内含子部位, 提示 RAR α 基因表达的改变在 APL 发病中发挥重要作用。目前研究证实, APL 细胞中的 PML-RAR α 融合蛋白能通过形成同二聚体或分别与 RXR 形成异二聚体结合在维甲酸反应元件 (RARE) 上, 从而抑制野生型 PML 和 RAR α 的功能, 导致早幼粒细胞正常的分化和成熟受阻、抑制肿瘤抑制基因和 PML 的促凋亡功能, 促使 APL 的发生^[9]。通过转基因小鼠研究证实, PML/RAR α 融合基因是 APL 发病机制中的关键因素, 而应用反义核酸封闭 PML-RAR α 融合基因的表达则细胞出现生长抑制和部分分化。此外, Srinivas 等^[10] 发现, c-Jun N-末端蛋白激酶可使 RAR α 发生磷酸化而降解, 在气管上皮恶性转化中发挥重要作用。现已发现, 小鼠 RAR β 基因主要有 4 种亚型, 而在人类主要有 3 种亚型, 包括 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 和 $\beta 4$, 其中, RAR $\beta 2$ 是经维甲酸诱导后产生的主要亚型, 在多种正常组织中高表达。由于肿瘤细胞染色体 3p21-24 区域常出现杂合子缺失 (LOH), 而编码 RAR β 的基因就位于 3p24, 并且多种肿瘤组织存在 RAR β 表达下降或缺失, 如食管癌肿瘤组织中 RAR $\beta 4$ 表达增加, 而 RAR $\beta 2$ 表达减少^[11], 提示其表达下降可能与肿瘤的发生有关。现已发现, 支气管肺癌及前列腺癌等患者肿瘤组织中 RAR $\beta 2$ 启动子区高甲基化率明显高于良性病变^[12-13], 提示, RAR $\beta 2$ 表达下降与其启动子区超甲基化有关。同时, 亦有研究发现肿瘤组织中 RAR $\beta 2$ 的表达减少与组蛋白乙酰化有关^[14]。此外, 研究还发现, 肿瘤组织中 RAR $\beta 2$ 和 RAR γ 基因表达的异常与维甲酸治疗的敏感性有关^[15-16]。

2.2 RXRs

RXRs 受体蛋白亦有 3 种亚型 α 、 β 、 γ 。目前研究发现, 多种肿瘤组织中存在 RXRs 表达水平的

改变。有研究发现, 沉默 RXR α 的表达可引起淋巴细胞的增生^[17], 而过表达 RXR α 则导致维甲酸处理的肿瘤细胞出现分化和生长抑制现象, 提示 RXRs 在细胞分化和凋亡方面发挥重要的转录调控作用, 其异常表达可能与肿瘤的发生有关。

Zhong 等^[18] 采用 Western Blot、免疫组化等技术检测了前列腺肿瘤组织中 RXR 的表达情况, 结果发现前列腺癌组织中 RXR α 蛋白水平高且主要定位于细胞质内, 核内没有或很少, 而在正常前列腺上皮细胞及良性前列腺增生组织中, RXR α 蛋白表达水平低, 而且主要定位在细胞核内。Buentig 等^[19] 对肾癌组织研究发现, 细胞核内含 RXRs 的肿瘤组织, 其恶性度相对较低, 且患者的生存期长, 而 RXRs 在细胞核外分布的肿瘤患者预后相对较差。因此, RXRs 受体在肿瘤组织中的表达水平也可作为判断肿瘤预后的指标, 而其在细胞核浆的分布形式也与肿瘤恶性程度有一定的相关性。

Brabender 等^[8] 研究发现, RXRs 在非小细胞肺癌组织中的表达直接影响肿瘤对维甲酸的敏感性, RXRs 受体在肿瘤组织中表达上调, 则肿瘤对维甲酸治疗敏感, 患者的治疗效果和预后好。Tanaka 等^[20] 利用乳腺癌维甲酸敏感细胞系 (MCF-7) 和维甲酸耐药细胞系 (MDA-MB-231) 研究发现, 在 MCF-7 细胞中 RXR α 主要分布在细胞核内, 而 RXR α 在 MDA-MB-231 细胞主要存在于胞质中, 而且表达水平较低。转染 RXR α 使细胞核中 RXR α 过表达后, RXR 配体可使转染后细胞出现明显的凋亡表现, 提示细胞核中 RXR α 表达与维甲酸的药物敏感性呈正相关关系。此外, Haugen 等^[21] 研究亦发现, 在甲状腺正常组织中 RXR γ 表达缺失, 而在甲状腺癌组织中存在 RXR γ 的过表达。用 9-cRA 分别处理 RXR γ 过表达的甲状腺癌细胞和不表达 RXR γ 的甲状腺癌细胞后, 前者出现生长抑制和凋亡, 而后者则无此作用。

3 RA在恶性肿瘤发生发展中的主要作用及其机制

3.1 促进细胞分化

3.1.1 诱导APL白血病细胞分化

在 APL 细胞中, PML-RAR 融合蛋白或其所形成的同源二聚体对含有 N-CoR 的阻抑蛋白复合体更有亲和力。一般认为, 生理剂量的 ATRA 不能导致复合体解离, 而药理浓度的 ATRA 通过与 PML-RAR α 融合蛋白中的 RAR α 结合并使其构象改变,

而与转录共抑制子脱离, 并同时招募转录共激活子, 打开染色质结构, 恢复野生型 RAR α 和 PML 基因功能, 解除 PML-RAR α 融合蛋白对 PML 和 RAR α 功能的抑制, 恢复 RAR α 的转录活性和 PML 调控细胞生长的活性, 激活与早幼粒细胞终末分化有关的基因而使白血病细胞分化成熟, 达到治疗目的^[22]。

3.1.2 诱导骨细胞的分化

骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 和骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 是公认的骨分化指标, 主要在成熟的或正在分化的成骨细胞上表达。Zhang 等^[23] 研究发现, ATRA 可促进骨形态蛋白 (BMP) 诱导的间充质细胞的成骨分化。在骨分化早期, 诱导 ALP 生成增加, 晚期, 加速成骨标记物 OPN 的生成。此外, 维甲酸还可以通过转化生长因子 TGF- β 信号通路中的 BMPR 和 Smad 基因增加 BMP 9 的表达, 在骨细胞的增殖分化过程中发挥重要作用。Luo 等^[24] 研究发现, ATRA 通过抑制 RAR α 的磷酸化, 从而介导骨肉瘤细胞的分化。此外, 由于细胞周期蛋白依赖性激酶活化激酶复合体 (cyclin-dependent kinase-activating kinase complex, CDK-CAK) 亦可使 RAR α 磷酸化而失活, Wang 等^[25] 研究发现, ATRA 通过抑制这一失活过程从而使得 RAR α 保持活化状态、激活 ATRA 信号转导通路, 从而实现诱导骨肉瘤细胞分化。

3.1.3 调控神经细胞分化

ATRA 可以调控神经细胞的分化。Yu 等^[26] 研究发现, 在神经元分化的早期, ATRA 与 CRABP-II 结合通过激活 RAR α /RXR 途径诱导 P19 干细胞转化为神经元前体细胞; 而在其分化的晚期, ATRA 通过与 FABP5、PPAR β/δ 结合进而影响 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶-1 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1, PDK1) 表达, 从而促进神经元前体细胞分化为成熟的神经元。作者认为, RAR α 和 PPAR β/δ 核受体分别在神经元分化早期和晚期发挥作用, 而这两种途径的转化是通过上调 RAR β 以及增加 CRABP-II/FABP5 的比率实现的。

维甲酸亦可诱导 NB 细胞的分化。此外, 亦有研究发现, 维甲酸可增加酪氨酸受体激酶 (tyrosine kinase receptor, Trk) 的转录, 从而激活 TrkB 信号转导通路使轴突延伸^[27]; 同时, 还可增加神经胶质源性神经生长因子的表达, 刺激 NB 细胞持续表达, 其受体诱导 NB 细胞发生分化^[28]。

3.2 抑制细胞增殖

Hayashi 等^[29] 研究发现, 9-cRA 处理后口腔癌

细胞后, 肿瘤细胞出现生长停滞, 伴 RAR β 表达增加, 但 RAR α 和 RAR γ 在蛋白质和 mRNA 水平表达均下降, 且过表达 RAR β 亦导致肿瘤细胞的生长抑制及其凋亡; Sun 等^[30]发现, ATRA 抑制肿瘤细胞增殖伴随 RAR β 生成的增加。Lin 等^[31]研究认为, RAR β 在维甲酸抗肿瘤作用中发挥重要作用, ATRA 转录激活 RAR β 需孤儿受体鸡卵清蛋白上游启动子转录因子 (chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor, COUP-TF) 的参与。

维甲酸可抑制多种肿瘤细胞增殖。Luo 等^[24]研究发现, ATRA 可使骨肉瘤 MG63 和 U2OS 细胞出现 G0/G1 周期阻滞并抑制其增殖, 伴有周期素依赖性激酶 7 (CDK7) 和细胞周期调控基因 P21 表达的下降及 cyclin C 表达的增加。Yang 等^[32]研究发现, ATRA 通过激活 Smad 信号通路抑制人骨肉瘤细胞的生长。Liu 等^[33]研究发现, ATRA 可以降低组蛋白甲基转移酶 (enhancer of zeste homologue 2, EZH2) 和 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, DNMT3b) 的表达, 进一步通过表观遗传调控和组蛋白甲基化修饰调控调节胚胎发育的转录因子 HOXB13 的表达, 在 AR(-) 前列腺癌细胞生长停滞中发挥重要作用。尽管 ATRA 对多数哺乳动物细胞有抗增殖的作用, 但研究发现 ATRA 对大多数黑色素瘤细胞无效。Fan 等^[34]研究认为, 黑色素瘤细胞对 ATRA 无反应主要与黑色素瘤细胞 RAR β 表达的缺失及其启动子区高甲基化及组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化有关, 上调 RAR β 表达与 ATRA 在黑色素瘤细胞中的抗增殖作用存在明显的正相关。

染色质修饰蛋白 1A (chromatin modifying protein 1A, Chmp1A) 是一种新的肿瘤抑制基因, 主要聚集在胞质和核基质, 对染色质结构、细胞周期等均有重要影响, 其失活与多种肿瘤的发生、发展关系密切。Li 等^[35]发现, 在 ATRA 敏感的人胰腺癌细胞中, Chmp1A 聚集在细胞核, ATRA 抑制胰腺癌细胞增殖, 伴有 Chmp1A、CRBP-1 及 P53 等表达的上调。沉默 Chmp1A 表达, ATRA 所致的 CRBP-1 及 P53 表达上升亦有所减弱, 同时, ATRA 所致的肿瘤细胞生长抑制作用亦消失; 而在 ATRA 非敏感的人胰腺癌细胞中, ATRA 治疗后 Chmp1A 移位至质膜表面, 但过表达 Chmp1A 不但可引起 ATRA 非敏感细胞的生长抑制, 而且 Chmp1A、P53 和 phospho-P53 表达亦增加。结果提示, ATRA 抑制胰腺癌细胞增殖是通过上调 Chmp1A、CRBP-1 等实现的, 核内 Chmp1A 水平在 ATRA 信号通路中发挥重要作用。

此外, Marzinke 和 Clagett-Dame 等^[36]发现 ATRA 处理神经母细胞瘤 N2A 细胞后出现细胞生长抑制和神经分化的现象, 且伴有 Clmn 表达的增加。过表达 Clmn 可使周期素依赖性蛋白激酶抑制剂 P21 生成增加, 细胞周期蛋白 D1 生成减少, hypo-Rb 蛋白生成增多, 从而阻止细胞周期从 G1 期到 S 期的进程。由于 Calmin 蛋白 (Clmn) 是一种单通道的 IV 型膜蛋白, 包含 1 个肌动蛋白结合域和 2 个肌钙蛋白同源域, 因此, 其认为 Clmn 是维甲酸应答基因, ATRA 通过 Clmn 基因促进细胞周期的停滞, 从而抑制神经母细胞瘤细胞的增殖。

3.3 诱导细胞凋亡

动物体内实验发现, ATRA 可诱导人食管癌 EC9706 细胞凋亡, 明显提高化疗药物 5-Fu 的治疗效果, 其作用机制与生存基因的下调及 caspase-3 的上调有关^[37]。Hoang 等^[38]研究发现, ATRA 可诱导胃肠道间质瘤 GIST-T1 细胞 caspase-3 蛋白聚集并激活, 出现凋亡的细胞形态学变化, 其发生机制与肿瘤细胞生存素表达的下调及 Bax 蛋白表达的上调有关。Bonofiglio 等^[39-40]研究发现, 小剂量 PPAR γ 和 RXR 的配体联合应用可通过激活线粒体途径诱发乳腺癌细胞凋亡。

3.4 耐药

耐药是临床应用 ATRA 治疗过程中最常出现的问题, 但其发生机制至今不清。最早研究认为, 许多正常细胞和癌细胞中的 CYP26 很容易被 ATRA 诱导, 维甲酸耐药可能与 CYPs 过度表达后使 ATRA 代谢增强、血药浓度下降及入核量减少等有关, 近年研究认为, 维甲酸耐药可能与 RAR 受体的突变、CRABP I 表达的增加及 RAR β 基因的减少等有关^[41-42]。此外, 亦有学者提出维甲酸耐药可能与 RXR 有关。一方面 RXR 在细胞核内亚结构中的位置影响其作用的发挥, RXR α 如定位于剪接子小室内, 而不是在核浆内, 会引起 RXR α 转录活性的丢失, 说明 RXR α 的区域隔离影响其功能实现; 另一方面, 对 RXR 的下游靶基因研究说明配体激活的 RXR 能够上调 P21 的表达, P21 基因启动子区域存在两个 RXRE, 从而使细胞出现周期阻滞和凋亡。然而, 如果同时 RAR 存在则会抑制 RXR 的这种作用。P21 的 RXRE 区域与 RAR 结合的 RARE 区域相互重叠似能对此提供解释^[43]。这说明 RXR 和 RAR 的平衡也影响 RXR 的转录因子功能。另外有证据表明 RXR 能够激活 PPAR 的靶基因, 但是仍需要进一步深入研究。

4 展望

维甲酸类药物对多种肿瘤细胞具有促分化、抑制增殖的作用，但长期服用，仍可出现耐药或维甲酸综合征等。了解维甲酸类药物抗肿瘤作用的机制，可更深入地了解其毒副作用的发生发展机制，并为进一步探索维甲酸类药物治疗非 APL 白血病及实体性恶性肿瘤提供方向。

[参 考 文 献]

- [1] Huang ME, Ye YC, Chen SR, et al. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 1988, 72(2): 567-72
- [2] Kedishvili NY. Enzymology of retinoic acid biosynthesis and degradation. *J Lipid Res*, 2013, 54(7): 1744-60
- [3] James SY, Lin F, Kolluri SK, et al. Regulation of retinoic acid receptor β expression by peroxisome proliferator-activated receptor γ ligands in cancer cells. *Cancer Res*, 2003, 63(13): 3531-8
- [4] Bastien J, Rochette-Egly C. Nuclear retinoid receptors and the transcription of retinoid-target genes. *Gene*, 2004, 328 : 1-16
- [5] Schug TT, Berry DC, Toshkov IA, et al. Overcoming retinoic acid-resistance of mammary carcinomas by diverting retinoic acid from PPAR β/δ to RAR. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(21): 7546-51
- [6] Schug TT, Berry DC, Shaw NS, et al. Opposing effects of retinoic acid on cell growth result from alternate activation of two different nuclear receptors. *Cell*, 2007, 129(4): 723-33
- [7] Giannini G, Dawson MI, Zhang X, et al. Activation of three distinct RXR/RAR heterodimers induces growth arrest and differentiation of neuroblastoma cells. *J Biol Chem*, 1997, 272(42): 693-701
- [8] Brabender J, Metzger R, Salonga D, et al. Comprehensive expression analysis of retinoic acid receptors and retinoid X receptors in non-small cell lung cancer: implications for tumor development and prognosis. *Carcinogenesis*, 2005, 26(3): 525-30
- [9] Anna L, Filippa P, Wilson H, et al. Role of PML/RAR α in the pathogenesis of APL. *Drug Discovery Today*, 2006, 3(4): 499-505
- [10] Srinivas H, Juroske DM, Kalyankrishna S, et al. c-Jun N-terminal kinase contributes to aberrant retinoid signaling in lung cancer cells by phosphorylating and inducing proteasomal degradation of retinoic acid receptor α . *Mol Cell Biol*, 2005, 25(3): 1054-69
- [11] Xu XC, Lee JJ, Wu TT, et al. Increased retinoic acid receptor- β 4 correlates *in vivo* with reduced retinoic acid receptor- β 2 in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14(4): 826-9
- [12] Grote HJ, Schmiemann V, Geddert H, et al. Aberrant promoter methylation of p16(INK4a), RARB2 and SEMA3B in bronchial aspirates from patients with suspected lung cancer. *Int J Cancer*, 2005, 116(5): 720-5
- [13] Jerónimo C, Henrique R, Hoque MO, et al. Quantitative RAR β 2 hypermethylation: a promising prostate cancer marker. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(12Pt1): 4010-4
- [14] Raif A, Marshall GM, Bell JL, et al. The estrogen-responsive B box protein (EBBP) restores retinoid sensitivity in retinoid-resistant cancer cells via effects on histone acetylation. *Cancer Lett*, 2009, 277(1): 82-90
- [15] Gebert JF, Moghal N, Frangioni JV, et al. High frequency of retinoic acid receptor β abnormalities in human lung cancer. *Oncogene*, 1991, 6(10): 1859-68
- [16] Klaassen I, Brakenhof RH, Smeets SJ, et al. Expression of retinoic acid receptor γ corelates with retinoic acid sensitivity and metabolism in head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Int J Cancer*, 2001, 92(5): 661-5
- [17] Stephensen CB, Borowsky AD, Lloyd KC. Disruption of RXR α gene in thymocytes and T lymphocytes modestly alters lymphocyte frequencies, proliferation, survival and T helper type 1/type 2 balance. *Immunology*, 2007, 121(4): 484-98
- [18] Zhong C, Yang S, Huang J, et al. Aberration in the expression of the retinoid receptor, RXR α , in prostate cancer. *Cancer Biol Ther*, 2003, 2(2): 179-84
- [19] Buentig N, Stoerkel S, Richter E, et al. Predictive impact of retinoid X receptor- α - expression in renal-cell carcinoma. *Cancer Biother Radiopharmaceut*, 2004, 19(3): 331-42
- [20] Tanaka T, Dancheck BL, Trifiletti LC, et al. Altered localization of retinoid X receptor α coincides with loss of retinoid responsiveness in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(9): 3972-82
- [21] Haugen BR, Larson LL, Pugazhenth U, et al. Retinoic acid and retinoid X receptors are differentially expressed in thyroid cancer and thyroid carcinoma cell lines and predict response to treatment with retinoids. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(1): 272-80
- [22] Wang ZY, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. *Blood*, 2008, 111(5): 2505-15
- [23] Zhang W, Deng ZL, Chen L, et al. Retinoic acids potentiate BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11917
- [24] Luo P, X Yang, M Ying, et al. Retinoid-suppressed phosphorylation of RAR α mediates the differentiation pathway of osteosarcoma cells. *Oncogene*, 2010, 29: 2772-83
- [25] Wang A, Alimova IN, Luo P, et al. Loss of CAK phosphorylation of RAR α mediates transcriptional control of retinoid-induced cancer cell differentiation. *FASEB J*, 2010, 24(3): 833-43
- [26] Yu S, Levi L, Siegel R, et al. Retinoic acid induces neurogenesis by activating both retinoic acid receptors (RARs) and peroxisome proliferator-activated receptor β/δ (PPAR β/δ). *J Biol Chem*, 2012, 287(50): 42195-205
- [27] Li KX, Li AM, Zhang JH. Effects of TrkB-BDNF signal pathway on synthesis and secretion of vascular endothelial

- growth factor in human neuroblastoma cells. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 2011, 13(3): 240-3
- [28] Angrisano T, Sacchetti S, Natale F, et al. Chromatin and DNA methylation dynamics during retinoic acid-induced RET gene transcriptional activation in neuroblastoma cells. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(6): 1993-2006
- [29] Hayashi K, Yokozaki H, Naka K, et al. Overexpression of retinoic acid receptor β induces growth arrest and apoptosis in oral cancer cell lines. *Jpn J Cancer Res*, 2001, 92(1): 42-50
- [30] Sun SY, Wan H, Yue P, et al. Evidence that retinoic acid receptor β induction by retinoids is important for tumor cell growth inhibition. *J Biol Chem*, 2000, 275(22): 17149-53.
- [31] Lin B, Chen GQ, Xiao D, et al. Orphan receptor COUP-TF is required for induction of retinoic acid receptor β , growth inhibition, and apoptosis by retinoic acid in cancer cells. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(3):957-70
- [32] Yang QJ, Zhou LY, Mu YQ, et al. All-trans retinoic acid inhibits tumor growth of human osteosarcoma by activating Smad signaling-induced osteogenic differentiation. *Int J Oncol*, 2012, 41(1):153-60
- [33] Liu Z, Ren G, Shangguan C, et al. ATRA inhibits the proliferation of DU145 prostate cancer cells through reducing the methylation level of HOXB13 gene. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40943
- [34] Fan J, Eastham L, Varney ME, et al. Silencing and reexpression of retinoic acid receptor β 2 in human melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2010, 23(3): 419-29
- [35] Li J, Orr B, White K, et al. Chmp 1A is a mediator of the anti-proliferative effects of all-trans retinoic acid in human pancreatic cancer cells. *Mol Cancer*, 2009, 8:7
- [36] Marzinke MA, Clagett-Dame M. The all-trans retinoic acid (atRA)-regulated gene Calmin (Clmn) regulates cell cycle exit and neurite outgrowth in murine neuroblastoma (Neuro2a) cells. *Exp Cell Res*, 2012, 318(1): 85-93
- [37] Lu TY, Li WB, Wu XA, et al. Mechanism of apoptosis of esophageal cancer EC9706 in nude mice induced by all-trans retinoic acid. *Chn J Oncol*, 2010, 32(12): 892-6
- [38] Hoang TC, Bui TK, Taguchi T, et al. All-trans retinoic acid inhibits KIT activity and induces apoptosis in gastrointestinal stromal tumor GIST-T1 cell line by affecting on the expression of survivin and Bax protein. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29: 165
- [39] Bonofiglio D, Cione E, Qi H, et al. Combined low doses of PPAR γ and RXR ligands trigger an intrinsic apoptotic pathway in human breast cancer cells. *Am J Pathol*, 2009, 175(3): 1270-80
- [40] Bonofiglio D, Cione E, Vizza D, et al. Bid as a potential target of apoptotic effects exerted by low doses of PPAR γ and RXR ligands in breast cancer cells. *Cell Cycle*, 2011, 10(14): 2344-54
- [41] Chen NN, Li Y, Wu ML, et al. CRABP-II- and FABP5-independent all-trans retinoic acid resistance in COLO 16 human cutaneous squamous cancer cells. *Exp Dermatol*, 2012, 21(1): 13-8
- [42] Petty WJ, Li N, Biddle A, et al. A novel retinoic acid receptor β isoform and retinoid resistance in lung carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(22): 1645-51
- [43] Tanaka T, Suh KS, Lo AM, et al. p21WAF1/CIP1 is a common transcriptional target of retinoid receptors: pleiotropic regulatory mechanism through retinoic acid receptor (RAR)/retinoid X receptor (RXR) heterodimer and RXR/RXR homodimer. *J Biol Chem*, 2007, 282(41): 29987-97