

DOI: 10.13376/j.cbbs/2014101

文章编号: 1004-0374(2014)07-0725-07

神经酰胺的功能及其在肿瘤发生发展中的作用

陈路芳¹, 卢小东^{2*}, 邵启祥², 覃文新¹

(1 上海市肿瘤研究所癌基因及相关基因国家重点实验室, 上海 200032; 2 江苏大学基础医学与医学技术学院, 镇江 212013)

摘要: 神经酰胺 (ceramide) 是一种重要的细胞间信号分子, 对细胞增殖、凋亡、分化等生命活动具有重要调节作用。近年来, 越来越多的研究表明神经酰胺与肿瘤的发生发展高度相关。为了进一步了解神经酰胺, 对神经酰胺的结构、分布、合成、生物学作用、抗肿瘤作用以及可能机制等方面进行综述。

关键词: 神经酰胺; 生物学作用; 抗肿瘤作用

中图分类号: Q541; R963 **文献标志码:** A

Ceramide: function and roles in tumorigenesis

CHEN Lu-Fang¹, LU Xiao-Dong^{2*}, SHAO Qi-Xiang², QIN Wen-Xin¹

(1 National Laboratory for Oncogenes and Related Genes, Shanghai Cancer Institute, Shanghai 200032, China;

2 School of Medical Sciences and Laboratory Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: Ceramide is an important intracellular signaling molecule, which plays an important role in cell proliferation, apoptosis and differentiation. A growing amount of articles have provided experimental and clinical evidences of the relationships between ceramide and tumorigenesis. To further understand ceramide, we summarized the structure, distribution, synthesis, the physiologically functions and the utility as a tumor suppressor molecule of ceramide.

Key words: ceramide; physiologically functions; antitumor properties

神经酰胺在鞘磷脂合成途径中起关键调节作用^[1], 是重要的细胞间信号分子^[2]。神经酰胺由一条鞘氨醇骨架链和不同碳数脂肪酸通过氨基相连接。哺乳动物中合成神经酰胺的脂肪酸种类繁多, 碳链长度从 14~32 不等, 其中多数为饱和脂肪酸^[3]。神经酰胺是鞘磷脂信号途径的中心分子, 起第二信使作用, 调节诸如增殖、凋亡、分化等信号过程。近年来, 越来越多的证据表明, 神经酰胺与肿瘤的发生发展有着密切关系^[4]。本文将对神经酰胺的结构、分布、合成、代谢相关酶、生物学功能及其在肿瘤发生、发展中的作用作一综述和讨论。

1 神经酰胺的结构、分布、合成及代谢相关酶

1.1 神经酰胺的结构

神经酰胺是脂肪酸与鞘氨醇链第二个碳原子的氨基共价结合形成的大分子。鞘氨醇长链为神经酰胺的骨架, 其类型通常为神经鞘氨醇、二氢神经鞘氨醇或 4-羟基鞘氨醇。最初发现神经酰胺的化学

组成时, 硬脂酸 (C18:0) 被认为是连接于鞘氨醇骨架链上的主要脂肪酸类型, 之后随着质谱技术的发展, 人们发现组成哺乳动物神经酰胺的脂肪酸种类繁多, 碳链长度从 14~32 不等, 其中多数为饱和脂肪酸^[3]。

1.2 神经酰胺在体内的定位

1.2.1 神经酰胺的组织定位

神经酰胺在人体内有着广泛的组织分布, 但在不同组织中, 神经酰胺的种类不同。这主要与组织中神经酰胺合成酶 (ceramide synthase, CerS), 在人体又被称为 Lass (longevity assurance) 的种类不同有关。在 Lass2 高度表达的肾组织中, 神经酰胺、鞘磷脂 (sphingomyelin, SM) 以及酸化神经酰胺 (hexosy-

收稿日期: 2013-08-31; 修回日期: 2013-10-29

基金项目: 上海肿瘤研究所癌基因及相关基因国家重点实验室项目(90-10-02)

*通信作者: E-mail: Lu_xdg@hotmail.com; Tel: 0511-88791201-217

lceramide, HexCer)均以C22~24:1为主;在肝组织中,虽然组成神经酰胺以及鞘磷脂的脂酰 CoA 仍然以 C22~24:1 为主,但是组成酸化神经酰胺的脂酰 CoA 却以 C16 为主。同样,在小肠组织中,神经酰胺、鞘磷脂和酸化神经酰胺以 C16 为主,尽管 q-PCR 显示在这些组织中 *Lass3* mRNA 高表达,而 *Lass3* 主要指导合成 C18 和 C24 神经酰胺。C18 神经酰胺和 C18 鞘磷脂在脑与骨骼肌中高表达,而酸化神经酰胺的组成却以长链脂酰 CoA 为主,这两个组织中 *Lass1* 的 mRNA 具有较高水平^[5]。以上现象说明神经酰胺的合成受多个层次因素共同调节,可能包括一些共同的底物或者脂酰 CoA。

1.2.2 神经酰胺的亚细胞定位

神经酰胺由于其疏水性而被限定于膜上,其从头合成主要在内质网中完成,之后被运送至高尔基复合体被加工成不同的鞘脂,如鞘磷脂、糖化神经酰胺等,最后被定向转运至质膜或者不同的细胞器发挥生理作用。此外,神经酰胺也可在质膜上通过鞘磷脂酶水解鞘磷脂得到。由不同类型鞘磷脂酶催化合成的神经酰胺在质膜上定位不同,发挥的功能也各不相同,如某些毒素可以在质膜上打孔,造成 Ca^{2+} 内流和细胞内蛋白质外流。内流的 Ca^{2+} 激活酸性鞘磷脂酶生成神经酰胺,覆盖于脂质双分子层的外层,促进外层脂质分子的紧密压缩,导致质膜向内凹陷包绕损伤部位形成内吞小泡。内吞小泡与溶酶体结合,降解其内容物。相反,激活的中性鞘磷脂酶催化生成的神经酰胺主要位于脂质双分子层的内层。通过促进质膜向外凸起形成小泡将质膜上由毒素形成的孔道排出至细胞外^[6]。

除了质膜,神经酰胺同样可见于高尔基复合体、线粒体、溶酶体等多种内膜系统细胞器膜表面。以

线粒体为例,在其外膜,神经酰胺可形成直径约为 10 nm 的穿膜孔道,促进线粒体内的蛋白释放入胞质,这是凋亡过程中的一个关键步骤。同时 Bcl-2 (B cell lymphoma/leukemia-2) 家族的成员根据其在凋亡过程中扮演角色的不同与神经酰胺相互作用,控制孔道的通透性,如起促凋亡作用的 Bax 与神经酰胺协同作用增加孔道的通透性,而抑制凋亡的 Bcl-xL 则通过降低孔道的稳定性,阻止线粒体内蛋白的释放^[7]。

1.3 神经酰胺的合成途径

神经酰胺可以通过 3 种不同途径合成,分别为从头合成途径、鞘磷脂酶途径和补救途径^[8],从头合成途径是在内质网的胞浆面由丝氨酸棕榈酰转移酶催化丝氨酸和棕榈酰 CoA 形成 3-酮基双氢鞘氨醇(3-ketosphinganine),再形成二氢鞘氨醇,之后再由神经酰胺合成酶酰化二氢鞘氨醇生成二氢神经酰胺,最后二氢神经酰胺脱氢形成神经酰胺^[1,9]。补救途径则是糖化鞘脂和神经鞘磷脂在溶酶体中的糖苷酶、酸性神经鞘磷脂酶与酸性神经酰胺酶的作用下形成鞘氨醇,同二氢鞘氨醇可以在内质网被神经酰胺合成酶酰化形成神经酰胺。此外,神经酰胺还可以通过鞘磷脂酶(sphingomyelinase, SMase)途径由细胞膜上的鞘磷脂水解生成^[8](图 1)。

1.4 神经酰胺代谢相关酶

1.4.1 鞘磷脂酶

神经酰胺水平的调节通过其合成酶和分解酶来控制,其中的鞘磷脂酶与神经酰胺合成酶在神经酰胺的合成代谢中起主要作用,鞘磷脂合成酶与神经酰胺酶则主要参与神经酰胺的分解代谢。鞘磷脂酶通过水解鞘磷脂的磷酸二酯键,生成神经酰胺和磷脂酰胆碱。根据 pH 值、离子依赖性和细胞定位,

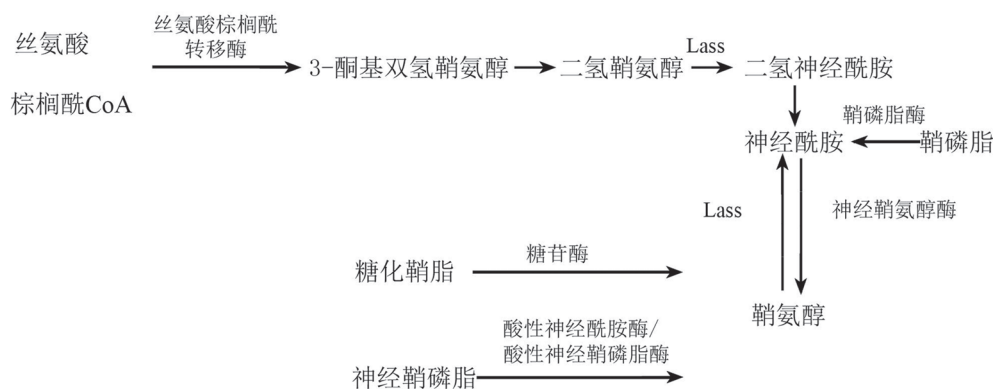


图1 神经酰胺合成途径

现已确定有 5 种活性完全不同的鞘磷脂酶, 分别如下。(1) 酸性鞘磷脂酶 (acid SMase, aSMase; 又称 ASM), 包含两种形式, 一种定位于溶酶体, 另一种为分泌型酸性鞘磷脂酶, 其突变将导致人类尼曼-皮克病。它的主要功能为使应激原刺激下细胞内的分子重新组织, 以应对刺激^[10]。(2) 锌离子依赖性的酸性鞘磷脂酶。(3) 镁离子依赖性的中性鞘磷脂酶 (neutral SMase, nSMase), 在哺乳动物中又分为 nSMase1、nSMase2 和 nSMase3, 其中对 nSMase2 的研究最为透彻。nSMase1 主要定位于内质网与高尔基复合体, 主要促进应激激活的神经酰胺合成。nSMase2 最初被发现定位于多种细胞系的高尔基复合体, 随后的研究表明, 其主要定位于质膜胞浆面, 且这种在质膜上云集的现象在某些刺激因素如 (TNF- α 、H₂O₂) 的刺激下增强。提示 nSMase2 由高尔基复合体向质膜的移动过程在激活 nSMase2 中起重要作用。nSMase2 的活性依赖于镁离子的浓度、不饱和脂肪酸及阴离子磷脂, 心磷脂和磷脂酰丝氨酸可增加 nSMase2 的活性。激活的 nSMase2 参与一系列的生化反应, 包括应激激活的神经酰胺合成、抑制细胞增殖、引起细胞周期停滞、阻止肿瘤形成以及在炎症相关信号通路中起关键作用^[11]。目前针对 nSMase3 的研究还较少, 其定位与功能仍不甚清楚, 但其可能被 TNF- α 和 DNA 损伤信号激活。在多种类型原发性肿瘤中, nSMase3 表达降低, 提示 nSMase3 可能在抑制肿瘤的发生过程中起作用^[12]。(4) 活性不依赖于镁离子的中性鞘磷脂酶, 主要存在于细胞质中。(5) 碱性鞘磷脂酶 (alkaline SMase, bSMase), 主要存在于肠细胞与胆管细胞中, 在水解鞘磷脂的过程中起作用^[13]。

1.4.2 神经酰胺合成酶

神经酰胺合成酶是神经酰胺从头合成途径中的关键酶。神经酰胺合成酶最早在酵母中被发现, 其中 Lag1p 与 Lac1p 是合成 C26 神经酰胺不可或缺的, 之后的研究发现 Lag1 与 Lac1 的同源基因存在于多种物种中, 在人类中与酵母长寿基因 Lag1 同源的基因被命名为 *Lass* (*longevity assurance*)。在哺乳动物中, 6 种 *Lass* 分别利用不同的脂酰 CoA 合成神经酰胺, 其中 *Lass1* 主要合成 C18 神经酰胺, *Lass4* 和 *Lass5* 选择性合成 C18 和 C16 神经酰胺, *Lass3* 以合成 C18 和 C24 神经酰胺为主, 而 *Lass6* 主要合成短链 (C14 和 C16) 神经酰胺。表达最为广泛的 *Lass2* 则主要利用长链 CoAs (C20~C26) 合成神经酰胺, 很少利用 C18:0-CoA, 几乎不利用 C16:0-CoA^[5]。

1.4.3 神经酰胺酶

神经酰胺酶 (ceramidase, CDase) 是神经酰胺清除途径中的主要酶。神经酰胺在激酶的作用下磷酸化生成神经酰胺 -1 磷酸盐, 再由神经酰胺酶催化生成神经鞘氨醇, 进一步在神经鞘氨醇激酶的作用下生成鞘氨醇 -1 磷酸盐。根据 pH 值的不同, 将神经酰胺酶分为 3 种, 分别为酸性、中性和碱性神经酰胺酶。酸性神经酰胺酶被发现仅存在于脊椎动物体内, 在溶酶体中催化神经酰胺分解。与之相反, 中性和碱性神经酰胺酶分布非常广泛, 存在于从低等真核生物到哺乳动物的多种物种中, 其中仅有中性神经酰胺酶存在于部分原核细胞, 包括一些病原菌内^[14]。

1.4.4 鞘磷脂合成酶

鞘磷脂合成酶 (sphingomyelin synthase, SMS) 催化神经酰胺生成鞘磷脂。根据不同的亚细胞定位, 将鞘磷脂合成酶分为两个亚型: SMS1 和 SMS2。目前仍不清楚这两种鞘磷脂合成酶在催化反应中的作用有无区别^[15]。

1.4.5 其他神经酰胺代谢酶

葡萄糖神经酰胺合成酶 (glucosylceramide, GlcCer) 催化神经酰胺形成葡萄糖神经酰胺, 后者与肿瘤治疗过程中多药耐药的形成密切相关。此外, 神经酰胺还在丝氨酸棕榈酰转移酶的作用下缩合丝氨酸与棕榈酰 CoA 从头合成。

2 神经酰胺的生物学作用

2.1 增殖

神经酰胺作为细胞内第二信使, 在介导细胞增殖、分化和凋亡等多种生理、病理过程中起着广泛的作用。通常认为神经酰胺抑制细胞增殖, 然而越来越多的研究表明, 这个观点是不全面的。不同种类的神经酰胺通过不同信号途径促进或者抑制细胞增殖, 如由 *Lass6* 催化生成的 C16 神经酰胺促进肿瘤细胞增殖, 而 *Lass1* 催化合成的 C18 神经酰胺则诱导细胞凋亡^[16]。研究显示, 阿霉素可通过激活神经酰胺的从头合成途径抑制多种肿瘤细胞增殖。分子机制之一为神经酰胺可激活 CREB3L1, 这是一种转录因子。激活的 CREB3L1 其 N 端进入细胞核, 与目的基因旁的调控序列结合, 促进目的基因的转录。这些目的基因所编码的产物大多对细胞周期起抑制作用, 包括众所周知的 p21 蛋白^[17]。与抑制增殖效应相反, Deng 等^[18]报道小鼠出生前暴露于酒精, 出生后海马齿状回神经细胞增殖旺盛, 神经元

数目增多, 血液中的神经酰胺含量也呈酒精剂量依赖性上升。提示酒精引起的神经细胞增殖机制与神经酰胺密切相关。推测其分子机制可能为上调蛋白激酶 Ca (PKC α) 激活的神经酰胺 / 神经酰胺-1-磷酸盐 (Cer-C1P) 通路^[18]。

2.2 凋亡

细胞凋亡是指细胞在一定的生理或病理条件下, 受凋亡相关基因的控制自动结束生命的过程。大量研究表明, 神经酰胺对多种组织细胞均具有促凋亡作用。哺乳动物中存在多种 *Lass*。然而, 鞘脂合成途径中的其他酶却只存在 1~2 种亚型, 提示不同种类的神经酰胺在细胞凋亡中发挥不同作用。随着质谱技术的发展, 越来越多的研究表明, C16 神经酰胺可通过 TNF- α 途径诱导肝细胞凋亡^[19], C18 神经酰胺可通过调节端粒酶活性及诱导线粒体功能异常促进咽鳞状细胞癌细胞 (UM-SCC-22A) 的凋亡^[20]。而对于 *Lass2* 指导合成的 C24 神经酰胺在凋亡中发挥的作用, 目前研究还较少, 且主要集中于 *Lass2* 敲除后对凋亡的影响。*Lass2* 敲除可导致小鼠肝脏中 C16:0-Cer 水平增高, 通过调节线粒体呼吸链复合体 IV 的活性, 促进活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 的产生, 从而诱导凋亡^[21]。富含 C16:0-Cer、C24:0-Cer 的肿瘤细胞上清液可以介导树突状细胞 (dendritic cell, DC) 的凋亡, 从而促使肿瘤细胞逃避免疫监视系统, 提示增加的内源性神经酰胺对肿瘤细胞可能起保护作用^[22]。由于神经酰胺对凋亡错综复杂的调控, 因此, 很难具体定义每一种神经酰胺在生理病理过程中所发挥的作用。然而, 通过对 *Lass* 基因的研究, 人为地调控它们的表达, 将使研究具体的神经酰胺功能成为可能。

2.3 分化

神经酰胺在多项细胞事件中均起到关键作用, 其中包括促进多种类型细胞的分化。用全反式维甲酸 (all trans-retinoic acid, ATRA) 处理 SH-SY5Y 细胞, 一种人成神经细胞瘤细胞, 可观察到细胞内中性神经酰胺酶 (NCDase) 下调, 神经酰胺分解减少, 总体含量增高, 而鞘氨醇和鞘氨醇磷酸酯 (sphingosine-1-phosphate, S1P) 的含量变化却不明显。同时, 细胞周期停滞并开始向神经细胞分化, 细胞表面出现了微管相关蛋白 2 (microtubule associated protein 2, MAP2), 这是一种分化神经细胞的表面标志物。以上现象提示神经酰胺含量的增高在 ATRA 诱导的 SH-SY5Y 细胞向神经细胞分化过程中起重要作用^[23]。同样, *Lass2* 全身敲除小鼠在 9 个月时

发现脑组织中半乳糖苷神经酰胺、硫苷脂等髓磷脂膜的主要成分显著减少, 导致髓鞘进行性变性, 髓鞘蛋白丢失, 脑髓质束和皮质内颗粒层退行性变, 伴随空泡形成, 外周神经组织 20% 的神经元出现空泡样变和多灶性髓鞘脱失。超过 7 个月, 该种小鼠的肝脏出现了多发肿瘤结节, 这些结节肉眼观呈灰白色, 布满整个肝实质。结节中的肿瘤细胞镜下胞浆内充满了大量的脂滴。在肿瘤组织中, 正常的具有中央静脉和周围放射状肝血窦的肝小叶结构消失, 肝组织的标志性超微结构, 如窦周隙、胆小管在肿瘤组织中均不能辨认^[24]。这说明 *Lass2* 指导合成的神经酰胺不仅对髓鞘的形成而且对神经元及肝细胞的正常分化均起着关键作用。

3 神经酰胺在肿瘤发生发展中的作用

3.1 神经酰胺与肿瘤发生

神经酰胺在肿瘤的发生过程中起着重要作用。多项研究发现, 吸烟的肺水肿患者体内神经酰胺的水平显著升高, 这类患者是肺癌的高度易感人群。烟草可通过两条信号途径促进肺癌, 尤其是非小细胞肺癌的发生。其中一条通过激活中性鞘磷脂酶 2, 这种酶能水解鞘磷脂为神经酰胺; 另一条通路则是癌症相关的内皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 通路, 该通路常被异常激活且不被降解, 从而不断传递增殖信号, 促进肿瘤的发生。这两条通路之间部分重合, 相互作用, 在烟草的作用下, EGFR 在浆膜富含神经酰胺的区域聚集, 提示神经酰胺在 EGFR 异常激活的过程中发挥重要作用^[25]。在神经酰胺与其他肿瘤发生的研究中发现, 人类结肠癌细胞神经酰胺含量比正常结肠黏膜细胞低 50% 以上^[26]。另外, 神经酰胺对乳腺癌^[27]、前列腺癌^[28]、膀胱癌^[29] 的发生也有抑制作用。

3.2 神经酰胺与肿瘤转移

目前针对癌症的治疗越来越先进, 包括手术、化疗、放疗, 然而, 肿瘤的转移依然是影响癌症患者存活率的一项重要因素。作为重要第二信使的神经酰胺介导着一系列抗增殖效应, 如诱导凋亡、细胞周期停滞等等^[24,26]。而内源性神经酰胺水平受到多种机制的调控, 包括从头合成途径或者激活鞘磷脂酶促进鞘磷脂水解生成神经酰胺。已有多项研究表明, 神经酰胺不仅抑制肿瘤的发生, 在阻止肿瘤的转移过程中也起到重要作用。Osawa 等^[30] 报道, 分别给酸性鞘磷脂酶 (ASM) 敲除小鼠和对照组小鼠注射 SL4 结肠癌细胞, 制造结肠癌肝转移模型,

发现 ASM 敲除小鼠相对对照组小鼠肝肿瘤生长加速; 而通过肝细胞内过表达 ASM, 肿瘤的生长可被抑制。他们分析其机制为 ASM 可促进鞘磷脂水解生成神经酰胺, 后者进一步水解磷酸化生成 S1P, S1P 诱导巨噬细胞聚集, 巨噬细胞释放一系列细胞毒性产物和免疫刺激因子, 其中包括 IFN- γ 。同时 S1P 还促进 CD3⁺T 细胞进入肿瘤。除了对免疫系统的影响, S1P 诱导肝内肌成纤维细胞 (hepatic myofibroblasts, hMFs) 合成金属蛋白酶组织抑制剂 1 (tissue inhibitor of metalloproteinase 1, TIMP1), TIMP1 有抑癌作用。以上因素共同作用抑制结肠癌的肝转移。Lass 为神经酰胺从头合成途径中的一种关键酶, 目前越来越多的研究表明, 通过对 Lass 表达的调控来调节神经酰胺的含量, 可以抑制肿瘤的转移, 如 *Lass2* 的过表达可以抑制人肝癌细胞系 SMMC-7721 转移^[31]。同时也发现, 抑制 *Lass2* 的表达可促进前列腺癌细胞系 PC-3M-2B4 体外侵袭^[28]。另外, 在对膀胱癌的研究中也发现, 膀胱癌细胞系的侵袭性越高, *Lass2* 蛋白的表达水平越低^[29]。

3.3 神经酰胺与肿瘤耐药

在众多肿瘤耐药模型中存在一种定位于细胞膜表面的糖蛋白, 称为 P-glycoprotein, 具有将细胞内药物泵出细胞的功能, 从而降低细胞内药物浓度。其他引起多药耐药的机制包括过表达多药耐药相关蛋白 (一种类似 P-glycoprotein 的蛋白), 改变凋亡相关蛋白如 Bcl-2 家族蛋白的表达以及抑癌蛋白 p53 的水平等。神经酰胺的代谢在肿瘤耐药过程中也发挥重要作用。研究显示, 化疗药物可以通过以下途径增加细胞内神经酰胺的水平。(1) 促进神经酰胺的合成: 如阿霉素可以在许多细胞中激活 Lass 或者通过水解鞘磷脂来增加细胞内神经酰胺的含量促进凋亡; 而如果用伏马霉素 (FB1) 抑制 Lass 活性, 则将抑制阿霉素介导的凋亡^[32]。紫杉醇可以通过影响 MDA-MB-468 和 MCF 乳腺癌细胞系中的神经酰胺从头合成途径抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡^[33]。联哌喜树碱也可通过增加细胞内神经酰胺的水平来实现抗肿瘤作用^[34]。(2) 抑制神经酰胺的降解或转化: 三氨基乙烯抗雌激素, 如他莫昔芬, 可以阻止神经酰胺向葡萄糖神经酰胺转化, 从而增加细胞内神经酰胺含量, 其药效与雌激素受体状态相关^[35]。同时, 他莫昔芬还可以与 P-glycoprotein 结合, 抑制 P-glycoprotein 的泵活性, 减少化疗药物的外排, 逆转肿瘤细胞的多药耐药性。而肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性也通常是通过抑制胞浆内凋亡前体神经

酰胺的合成或耗竭神经酰胺来实现。诸多研究表明, 神经酰胺可被葡萄糖神经酰胺合成酶转化成无毒形式的葡萄糖神经酰胺, 造成多种肿瘤细胞对化疗药物耐药。因此, 如果抑制葡萄糖神经酰胺的合成则可扭转肿瘤细胞的耐药, PPMP (1-phenyl-2-palmitoylamino-3-morpholino-1-propanol)、PPPP (1-phenyl-2-hexadecanoylamino-3-pyrrolidino-1-propanol)、PDMP (1-phenyl-2-dsdecanoylamino-3-morpholino-1-propanol) 均为葡萄糖神经酰胺合成酶的中性鞘磷脂底物, 同时也是酶的竞争性抑制剂潜在的作用位点。PPMP 可以有效抑制乳腺癌细胞系 MCF-7-AdrR 中葡萄糖神经酰胺的合成, 增强了细胞对阿霉素的敏感性^[35]。PDMP 抑制葡萄糖神经酰胺的合成并且显著增强了 CHP-100 神经上皮瘤细胞中 C6 神经酰胺的促凋亡效应^[36]。以上研究结果说明, 无论通过何种途径增加肿瘤细胞中神经酰胺的含量, 均可能逆转肿瘤对化疗药物的多药耐药情况。神经酰胺不仅在化疗引起细胞死亡过程中起重要作用, 在放疗介导的细胞死亡过程中也扮演重要角色。小牛动脉内皮细胞暴露于电离辐射中时, 可通过激活中性鞘磷脂酶, 促进鞘磷脂水解为神经酰胺, 激活凋亡信号通路。后续研究发现, 电离辐射引起的 DNA 碎裂同时伴随 Bcl-2 mRNA 水平的下降。而将细胞暴露于神经酰胺也对 Bcl-2 有相同影响。提示暴露于电离辐射后, 神经酰胺介导的凋亡可能是通过调节 Bcl-2 基因的表达来实现^[37]。因此, 增加神经酰胺在细胞内的表达将可能成为逆转肿瘤多药耐药性的一种新策略。

3.4 神经酰胺抑癌相关机制

神经酰胺被公认为重要的第二信使。神经酰胺参与激活多种蛋白激酶和蛋白磷酸酶, 影响细胞周期、生长、凋亡和老化^[38-40]。它对肿瘤细胞有如下作用。(1) 诱导肿瘤细胞凋亡。神经酰胺通过 Rac-1 (ras-related C3 botulinum toxin substrate 1)、PKC (protein kinase C) 和 TAK-1 (TGF β activated kinase) 激活 JNK (jun N-terminal kinase), JNK 介导抗凋亡因子 Bcl-2 磷酸化失活, 从而抑制 Bcl-2 抗凋亡活性^[41]。Bcl-2 家族根据功能不同分为两大亚族: 抗凋亡, 如 Bcl-2、Bcl-xL; 促凋亡, 如 Bax、Bad、Bid、Bcl-xS、Bag21、Bak。目前对 Bcl-2 和 Bax 的研究较多。现有研究认为, Bcl-2 主要是通过对线粒体相关信号的激活或者抑制进行对凋亡的调控。Bcl-2 蛋白主要定位于线粒体, 其肽链 C 端以信号序列的形式插入线粒体外膜, 胞质部分可与 Bcl-2

家族其他成员形成二聚体发挥抗凋亡或促凋亡作用^[42]。神经酰胺还可以激活 c-Jun, 促进凋亡^[43]。神经酰胺与组织蛋白 D 结合使其由相对分子质量 5.2×10^4 转变为 3.2×10^4 的成熟体, 通过激活 caspase-3 (cysteine proteases with aspartate specificity) 促进凋亡^[44]。caspase 根据功能不同分为两大类, 一类为启动 caspase, 以 caspase8 和 caspase9 为代表; 另一类为效应 caspase, 以 caspase3 为代表。激活的效应 caspase 能促进细胞凋亡, 如导致细胞核碎裂、DNA 断裂等; 而使用抑制剂抑制 caspase 的表达发现, 神经酰胺是早期激活的启动 caspase (caspase8) 的下游, 同时是激活效应 caspase (caspase3) 的上游, 并且神经酰胺诱导细胞凋亡的同时还促进酸性鞘磷脂酶的生成, 通过激活 caspase3 进一步诱导神经酰胺的合成, 更加促进了凋亡^[45]。另外, 神经酰胺还在多种类型细胞中激活 MAPK 途径, 诱导凋亡。此外, 神经酰胺还在免疫系统^[46]、心血管系统^[47]、中枢神经系统^[48]中分别通过不同途径促进凋亡。(2) 抑制肿瘤细胞扩散^[49-51]。(3) 影响化疗药物的敏感性。某些对化疗耐受的肿瘤细胞通过耗竭神经酰胺途径, 而有些是基因缺陷导致神经酰胺合成障碍, 从而使细胞内神经酰胺浓度降低而逃逸凋亡^[52]。目前, 越来越多的研究旨在通过基因治疗来治疗癌症。选择合适的目的基因来改变细胞内神经酰胺的表达水平也许将成为治疗癌症的一种有效策略。

4 展望

作为细胞内第二信使分子, 神经酰胺通过多种信号途径介导各种细胞过程, 如增殖、凋亡、分化和生长停滞。在肿瘤的发生、发展中, 神经酰胺可以抑制肿瘤的发生、转移以及增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。神经酰胺信号途径的多样性揭示神经酰胺在维持机体内环境稳态中有着重要地位。更好地理解神经酰胺的生成途径、代谢途径、不同种类神经酰胺的具体功能及相关分子机制, 有助于完善细胞过程调节, 为肿瘤的治疗提供新的理论依据。

参 考 文 献

- [1] Merrill AH. *De novo* sphingolipid biosynthesis: a necessary, but dangerous, pathway. *J Biol Chem*, 2002, 277(29): 25843-6
- [2] Kolesnick R. The therapeutic potential of modulating the ceramide/sphingomyelin pathway. *J Clin Invest*, 2002, 110(1): 3-8
- [3] Merrill AH Jr, Sullards MC, Allegood JC, et al. Sphingolipidomics: high-throughput, structure-specific, and quantitative analysis of sphingolipids by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Methods*, 2005, 36(2): 207-24
- [4] Teufel. The longevity assurance homologue of yeast lag1 (*Lass*) gene family (Review). *Int J Mol Med*, 2009, 23(2): 135-40
- [5] Laviad EL, Albee L, Pankova-Kholmyansky I, et al. Characterization of ceramide synthase 2: tissue distribution, substrate specificity, and inhibition by sphingosine 1-phosphate. *J Biol Chem*, 2008, 283(9): 5677-84
- [6] Draeger A, Babiychuk E. Ceramide in plasma membrane repair. *Handb Exp Pharmacol*, 2013, (216): 341-53
- [7] Colombini M. Membrane channels formed by ceramide. *Handb Exp Pharmacol*, 2013, (215): 109-26
- [8] Kolter T, Sandhoff K. Sphingolipids-their metabolic pathways and the pathobiochemistry of neurodegenerative diseases. *Angew Chem: Int edit*, 1999, 38: 1532-68
- [9] Futerman AH, Riezman H. The ins and outs of sphingolipid synthesis. *Trends Cell Biol*, 2005, 15(6): 312-8
- [10] Henry B, Ziobro R, Becker K, et al. Acid sphingomyelinase. *Handb Exp Pharmacol*, 2013, (215): 77-88
- [11] Wu BX, Clarke CJ, Hannun YA. Mammalian neutral sphingomyelinases: regulation and roles in cell signaling responses neuromolecular. *Neuromol Med*, 2010, 12(4): 320-30
- [12] Corcoran CA, He Q, Ponnusamy S, et al. Neutral sphingomyelinase-3 is a DNA damage and nongenotoxic stress-regulated gene that is deregulated in human malignancies. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(5): 795-807
- [13] Zhang Y, Cheng Y, Hansen GH, et al. Crucial role of alkaline sphingomyelinase in sphingomyelin digestion: a study on enzyme knockout mice. *J Lipid Res*, 2011, 52(4): 771-81
- [14] Ito M, Okino N, Tani M. New insight into the structure, reaction mechanism, and biological functions of neutral ceramidase. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1841(5): 682-91
- [15] Chen Y, Yurek DA, Yu L, et al. Development of a quantitative biochemical and cellular sphingomyelin synthase assay using mass spectrometry. *Anal Biochem*, 2013, 438(1): 61-6
- [16] Saddoughi SA, Ogretmen B. Diverse functions of ceramide in cancer cell death and proliferation. *Adv Cancer Res*, 2013, 117: 37-58
- [17] Denard B, Lee C, Ye J. Doxorubicin blocks proliferation of cancer cells through proteolytic activation of CREB3L1. *ELife*, 2012, 1: e00090
- [18] Deng TX, Wang ZX, Gao XQ, et al. Alcohol-induced proliferation of neurons in mouse hippocampal dentate gyrus: a possible role of ceramide. *Acta Physiol Sin*, 2011, 63(6): 479-90
- [19] Osawa Y, Uchinami H, Bielawski J, et al. Roles for C16-ceramide and sphingosine 1-phosphate in regulating hepatocyte apoptosis in response to tumor necrosis factor- α . *J Biol Chem*, 2005, 280(30): 27879-87
- [20] Venkataraman K, Riebeling C, Bodennec J, et al. Upstream of growth and differentiation factor 1 (*uog1*), a mammalian homolog of the yeast longevity assurance gene 1 (*LAG1*), regulates N-stearoyl-sphinganine (C18-

- (dihydro)ceramide) synthesis in a fumonisin B1-independent manner in mammalian cells. *J Biol Chem*, 2002, 277(38): 35642-9
- [21] Zigdon H, Kogot-Levin A, Park JW, et al. Ablation of ceramide synthase 2 causes chronic oxidative stress due to disruption of the mitochondrial respiratory chain. *J Biol Chem*, 2013, 288(7): 4947-56
- [22] Kanto T, Kalinski P, Hunter OC, et al. Ceramide mediates tumor-induced dendritic cell apoptosis. *J Immunol*, 2001, 167(7): 3773-84
- [23] Tanaka K, Tamiya-Koizumi K, Hagiwara K, et al. Role of down-regulated neutral ceramidase during all-trans retinoic acid-induced neuronal differentiation in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J Biochem*, 2012, 151(6): 611-20
- [24] Imgrund S, Hartmann D, Farwanah H, et al. Adult ceramide synthase 2 (CERS2)-deficient mice exhibit myelin sheath defects, cerebellar degeneration, and hepatocarcinomas. *J Biol Chem*, 2009, 284(48): 33549-60
- [25] Goldkorn T, Chung S, Filosto S. Lung cancer and lung injury: the dual role of ceramide. *Handb Exp Pharmacol*, 2013, (216): 93-113
- [26] 王红梅, 张桂英. 神经酰胺与消化道肿瘤. 国外医学: 生理、病理科学与临床分册, 2004, 24(1): 87-9
- [27] Fan S, Niu Y, Tan N, et al. LASS2 enhances chemosensitivity of breast cancer by counteracting acidic tumor microenvironment through inhibiting activity of V-ATPase proton pump. *Oncogene*, 2013, 32(13): 1682-90
- [28] Xu X, You J, Pei F. Silencing of a novel tumor metastasis suppressor gene LASS2/TMSG1 promotes invasion of prostate cancer cell *in vitro* through increase of vacuolar ATPase activity. *J Cell Biochem*, 2012, 113(7): 2356-63
- [29] Wang H, Wang J, Zuo Y, et al. Expression and prognostic significance of a new tumor metastasis suppressor gene LASS2 in human bladder carcinoma. *Med Oncol*, 2012, 29(3): 1921-7
- [30] Osawa Y, Suetsugu A, Matsushima-Nishiwaki R, et al. Liver acid sphingomyelinase inhibits growth of metastatic colon cancer. *J Clin Invest*, 2013, 123(2): 834-43
- [31] Tang N, Jin J, Deng Y, et al. LASS2 interacts with V-ATPase and inhibits cell growth of hepatocellular carcinoma. *Acta Physiol Sin*, 2010, 62(3): 196-202
- [32] Bose R, Verheij M, Haimovitz-Friedman A, et al. Ceramide synthase mediates daunorubicin-induced apoptosis: an alternative mechanism for generating death signals. *Cell*, 1995, 82(3): 405-14
- [33] Charles AG, Han TY, Liu YY, et al. Taxol-induced ceramide generation and apoptosis in human breast cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2001, 47(5): 444-50
- [34] Senchenkov A, Litvak DA, Cabot MC. Targeting ceramide metabolism—a strategy for overcoming drug resistance. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93(5): 347-57
- [35] Lavie Y, Cao HT, Volner A, et al. Agents that reverse multidrug resistance, tamoxifen, verapamil, and cyclosporin A, block glycosphingolipid metabolism by inhibiting ceramide glycosylation in human cancer cells. *J Biol Chem*, 1997, 272(3): 1682-7
- [36] Spinedi A, Bartolomeo SD, Piacentini M. Apoptosis induced by N-hexanoylsphingosine in CHP-100 cells associates with accumulation of endogenous ceramide and is potentiated by inhibition of glucocerebrosidase synthesis. *Cell Death Differ*, 1998, 5(9): 785-91
- [37] Haimovitz-Friedman A, Kan CC, Ehleiter D, et al. Ionizing radiation acts on cellular membranes to generate ceramide and initiate apoptosis. *J Exp Med*, 1994, 180(2): 525-35
- [38] Liscovitch M, Cantley LC. Lipid second messengers. *Cell*, 1994, 77(3): 329-34
- [39] Carpinteiro A, Dumitru C, Schenck M, et al. Ceramide-induced cell death in malignant cells. *Cancer Lett*, 2008, 264(1): 1-10
- [40] Sawai H, Domae N, Okazaki T. Current status and perspectives in ceramide-targeting molecular medicine. *Curr Pharm Des*, 2005, 11(19): 2479-87
- [41] Ruvolo PP. Intracellular signal transduction pathways activated by ceramide and its metabolites. *Pharmacol Res*, 2003, 47(5): 383-92
- [42] Knudson CM, Korsmeyer SJ. Bcl2 and Bax function independently to regulate cell death. *Nat Genet*, 1997, 16(4): 358-63
- [43] Yoon S, Choi J, Yoon J, et al. Okadaic acid induces JNK activation, bim overexpression and mitochondrial dysfunction in cultured rat cortical neurons. *Neurosci Lett*, 2006, 394(3): 190-5
- [44] Pettus BJ, Chalfant CE, Hannun YA. Ceramide in apoptosis: an overview and current perspectives. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1585(2-3): 114-25
- [45] Chalfant CE, Rathman K, Pinderman RL, et al. *De novo* ceramide regulates the alternative splicing of caspase 9 and Bcl2x in A549 lung adenocarcinoma cells. *J Biol Chem*, 2002, 277(15): 12587-95
- [46] Chen L, Kim TJ, Pillai S. Inhibition of caspase activity prevents anti-IgM induced apoptosis but not ceramide generation in WEHI 231 B cells. *Mol Immunol*, 1998, 35(4): 195-205
- [47] Haimovitz-Friedman A, Cordon-Cardo C, Bayoumy S, et al. Lipopolysaccharide induces disseminated endothelial apoptosis requiring ceramide generation. *J Exp Med*, 1997, 186(11): 1831-41
- [48] Herr I, Wilhelm D, Bohler T, et al. Activation of CD95 (APO-1/Fas) signaling by ceramide mediates cancer therapy-induced apoptosis. *EMBO J*, 1997, 16(20): 6200-8
- [49] Karahatay S, Thomas K, Koybasi S, et al. Clinical relevance of ceramide metabolism in the pathogenesis of human head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC): Attenuation of C18-ceramide in HNSCC tumors correlates with lymphovascular invasion and nodal metastasis. *Cancer Lett*, 2007, 256(1): 101-11
- [50] Gulbins E, Li PL. Physiological and pathophysiological aspects of ceramide. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2006, 290(1): R11-26
- [51] Nakagawa R, Motoki K, Ueno H, et al. Treatment of hepatic metastasis of the colon26 adenocarcinoma with an alpha-galactosylceramide, KRN7000. *Cancer Res*, 1998, 58(6): 1202-7
- [52] Nishio S, Yamada N, Ohyama H, et al. Enhanced suppression of pulmonary metastasis of malignant melanoma cells by combined administration of α -galactosylceramide and interleukin-18. *Cancer Sci*, 2008, 99(1): 113-20