

磷脂酶A₂与肿瘤发生相关性研究进展

张学慧 综述 张 鹏 审校

摘要 近年随着肿瘤的高发磷脂酶A₂(phospholipase A₂, PLA₂)逐渐引起人们的广泛关注,越来越多的研究表明PLA₂是一个与肿瘤发生密切相关的炎症因子,其生物学变异小,特异性高,很少受其他炎症标志物影响,与多种肿瘤的发生相关。特别与消化道肿瘤中的肠癌和胃癌分化程度有一定关系,并与其侵袭转移机制及凋亡发生有关联。另外可协助生殖系统中的前列腺癌 Gleason 评分和临床药物治疗,以及与卵巢癌的增殖浸润密切相关,故磷脂酶A₂可能作为临床诊治肿瘤新的检测指标,可能成为预测肿瘤发生及发展的一个新的研究方向。磷脂酶A₂的生物学特性使其应用于临床实验室检测,将有助于肿瘤患者早期监测及制定个体化治疗方案。

关键词 磷脂酶A₂ 肿瘤 检测

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20140765

Research progress in relationship between phospholipase A₂ and tumorigenesis

Xuehui ZHANG, Peng ZHANG

Correspondence to: Peng ZHANG; E-mail: ckktl@163.com

Department of Clinical Laboratory, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center of Cancer, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin 300060, China.

Abstract Phospholipase A₂ (PLA₂) has been a recent concern given the high incidence of tumors. Increasing amounts of research report that PLA₂ is an inflammatory factor that is closely associated with tumor incidence. Moreover, it displays high specificity, minimal biological variation, is rarely affected by other inflammation markers, and has a definite relation with the differentiation in tumors of the digestive tract, such as intestinal and gastric cancers. PLA₂ is also related to the invasion mechanisms, metastasis, and apoptosis of tumors. In addition, PLA₂ can be applied to the scoring and to the clinical and medicinal treatment of the Gleason tumor, which is found in prostatic cancers of the genital system. It is also closely related to the proliferation and infiltration of ovarian cancer cells. Therefore, PLA₂ can be used as a new test index for the clinical diagnosis and treatment of tumors, which may generate a new research direction with respect to the forecasting of tumor incidence and progression. The bionomics of PLA₂ facilitate the use of inflammatory factors in the detection procedures utilized by clinical laboratories, which can monitor the conditions of cancer patients in advance and effectively customize treatment regimens for such patients.

Keywords: phospholipase A₂, tumor, detection

随着我国经济的飞速发展,胃癌、卵巢癌、前列腺癌、肝癌等疾病严重威胁着人类的健康,因此,肿瘤的早期发现、预防和治疗尤为重要,新的生物标志与危险因子的检测也逐渐成为研究的重要焦点。近年来,越来越多的证据表明高发磷脂酶A₂(phospholipase A₂, PLA₂)在多种人类恶性肿瘤的发生中发挥着关键性作用^[1],测定其在血浆中的含量或活性可能作为预测肿瘤发生的关键指标,有助于降低肿瘤发病率,并成为新的潜在治疗靶点。本研究对PLA₂与肿瘤发生的研究进展作一综述,以期对肿瘤的早期诊断、预防和治疗提供依据。

1 PLA₂的起源

19世纪末 PLA₂超家族首次从眼镜蛇毒液中纯化并鉴定,后来从响尾蛇毒液中纯化鉴定。20世纪70

年代随着蛋白质测序分析方法的进步,人们发现这种酶具有大量半胱氨酸,作为分泌型酶,其以二硫键的形式存在。紧接着通过对可水解磷脂的猪胰液酶的研究确定哺乳动物酶(也称为人类胰酶)与眼镜蛇有相同的二硫键形式,因此将其命名为IB,而眼镜蛇酶称为IA^[2]。

2 PLA₂的分类

PLA₂超家族主要包括6种类型:分泌型磷脂酶A₂(secreted phospholipase A₂, sPLA₂)、细胞胞质型磷脂酶A₂(cytosolic phospholipase A₂, cPLA₂)、非Ca²⁺依赖型磷脂酶A₂(calcium independent phospholipase A₂, iPLA₂)、血小板活化因子乙酰水解酶(PAF acetylhydrolases, PAF-AH)、溶酶体磷脂酶A₂(lysosomal phospholipase A₂, LPLA₂)、脂肪特异性磷脂酶A₂(adipose-spe-

作者单位:天津医科大学肿瘤医院检验科,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市肿瘤防治重点实验室(天津市300060)

通信作者:张鹏 ckktl@163.com

cific phospholipase A₂, AdPLA)^[3]。每一种类型又可再分为不同的亚型。如 sPLA₂ 包括 14 个亚型 (I B、II A、II C、II D、II E、II F、III、V、X、XII 型等), cPLA₂ 包括 3 个类型 (IV A、IV B、IV C 型) 或 4 个亚型 (α 、 β 、 γ 、 δ 型), iPLA₂ 包括 3 个类型 (VIA-1、VIA-2、VIB 型)^[4]。PAF-AH 包括 2 种类型, 即 GVII 和 GVIII, 可以催化血小板活化因子 (PAF)_{sn-2} 位置的乙酰基水解, 产生 lyso-PAF 和乙酸盐, 因此这种酶最初称为 PAF-AH; GVII PLA₂ 又分为 GVIIA PLA₂ 和 GVII B PLA₂, 其中 GVIIA PLA₂ 是一种分泌型酶, 分子量为 45 kDa, 与人类血浆中的低密度脂蛋白 (LDL) 和高密度脂蛋白 (HDL) 均相关, 因此, 这种酶也称为血浆 PAF-AH (pPAF-AH) 或脂蛋白相关磷脂酶 A₂ (Lp-PLA₂)。GVII B PLA₂ 也指 PAF-AH II, 是一种细胞内蛋白, 分子量为 40 kDa, 具有一个 N 末端豆蔻酰化作用位点, 其与 GVIIA PLA₂ 有 41% 的氨基酸序列相同。GVIII PLA₂ 是一种胞内异源三聚体蛋白复合物, 也称为 PAF-AH Ib。GVIII PLA₂ 包含 2 个分子量大小为 26 kDa 的催化亚单位 (α 亚单位) 和 1 个分子量为 45 kDa 的非催化调节亚单位 (β 亚单位), 催化亚单位 GVIIIA 和 GVIIIB PLA₂, 也称为 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$, 形成催化地活泼的同源和异源二聚体。 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 亚单位相互之间共有 69% 氨基酸序列同一性, 并不显现出与 GVII PLA_{2s} 具有有效的氨基酸序列同一性^[3]。

3 PLA₂ 与各类肿瘤

PLA₂ 蛋白是一种酶的超家族, 可催化结合在 sn-2 位置磷脂的脂肪酸水解并产生游离脂肪酸和溶血磷脂素类^[5]。花生四烯酸是由 PLA₂ 释放的一种十分重要的脂肪酸, 是一种肿瘤相关类花生酸如前列腺素及白三烯生物合成途径的底物^[6]。II A 型 PLA₂ (PLA₂G2A), 是 PLA₂ 研究较多的一种分泌型。PLA₂G2A 蛋白在人类正常肠黏膜及许多疾病状况下表达, 包括动脉粥样硬化、炎症及肿瘤^[7]。有报道 PLA₂G2A 在不同类型的人类恶性肿瘤中存在不同的表达及有争议的生物学功能^[8]。如 PLA₂G2A 在前列腺癌的发展中过度表达, 推测其具有致癌作用^[8-9]。相反, 在结直肠癌中 PLA₂G2A 的量减少^[10-11]。对小鼠的基因研究表明 PLA₂G2A 强烈抵制肠道肿瘤的形成^[12-13]。因此, PLA₂G2A 的促进肿瘤形成及抗肿瘤形成作用具有组织特异性, 仍需进行更多研究来阐明 PLA₂G2A 与人类肿瘤的综合相关性。

3.1 PLA₂ 与消化道肿瘤

3.1.1 PLA₂ 与肠癌的关系 PLA₂ 可能是结直肠癌的保护性因子。有研究表明结直肠癌中 PLA₂G2A 的表达降低^[10-11], 更重要的是自然突变消除了 PLA₂G2A 催化区域 (如 C57BL/6) 的小鼠品系比表达野生型

PLA₂G2A 等位基因的品系更易于发生肠道肿瘤形成^[14]。将野生型 PLA₂G2A 引入易感染肿瘤的转基因 C57BL/6 品系导致肿瘤多样性、大小及形成进度的显著降低, 在许多其他小鼠肠癌模式中相同, 包括 Muc2 敲除^[12] 以及氧化偶氮甲烷治疗的小鼠^[13]。这些发现使人们提出 PLA₂G2A 可能具有抗肿瘤特性, 这与 PLA₂G2A 在前列腺癌中的致癌作用相矛盾。

3.1.2 PLA₂ 与胃癌的关系 PLA₂ 可能是胃癌的保护性因子。胃癌是人类第四大常见恶性肿瘤。胃癌的侵略性本质可能与一系列细胞内及细胞外事件相关, 如各种原癌基因的激活、肿瘤抑制因子的失活、生长因子及其受体的活性异常和微环境的异常改变。尽管人们已发现许多胃癌发展及形成中的分子改变, 精确的病理机制仍未完全阐明。因此, 仍需对胃癌的病因学及分子学发病机制作进一步了解。胃癌中 PLA₂G2A 的作用仍然存在争议。人们发现在免疫组织化学研究早期, 胃癌细胞中可检测到 PLA₂G2A 免疫染色分化较低, 在肿瘤侵入区 PLA₂G2A 的表达增强似乎预示着较强的侵袭能力^[15]。然而, 在随后包含 149 例胃癌患者的分析中, PLA₂G2A mRNA 的表达与较少的肿瘤转移及较长时间生存相关^[16]。表达与更好的分化、较早的 TNM 分期相关, 因此, 也与胃癌患者较长时间的生存相关^[17]。Wang 等^[18] 为揭示这些有关胃癌 PLA₂G2A 相矛盾的发现, 对 900 多例中国患者进行研究, 推测 PLA₂G2A 的表达对胃癌患者具有保护作用。除了胃癌细胞的细胞质, 化生肠黏膜的潘氏细胞的胞质及分泌颗粒也对 PLA₂G2A 有显著地免疫反应。较强的免疫染色仅限于肠腺窝底部或其附近的化生导管, 潘氏细胞就位于此区域。正常条件下, 潘氏细胞对一系列刺激如细菌抗原做出反应, 在小肠通过向腺窝腔内释放大量抗微生物分子 (如溶酶体、PLA₂G2A) 保护宿主免受细菌的损害, 从而有利于胃肠屏障的维持^[19]。Wang 等^[18] 的研究发现肠上皮化生在中国胃癌患者中普遍存在。而在另一项原位杂交试验中, 检测到在肠化生黏膜发现的潘氏细胞有丰富的 PLA₂G2A mRNA 表达, 而正常或发炎胃黏膜未检测到^[16]。与正常胃黏膜 PLA₂G2A 缺乏的情况相反, PLA₂G2A 免疫染色在胃癌细胞中标记而不在周围的炎性或间质细胞中着色。以这种方式, PLA₂G2A 似乎在胃肿瘤发生中发挥致癌基因的作用。然而, 生存分析研究中显示 PLA₂G2A 的表达对胃癌患者存在保护作用。最近的一项体外实验也表明, 在 Wnt/ β -catenin 信号的管理下, PLA₂G2A 可作为胃癌侵袭细胞和转移的一种抑制剂^[20]。由于这些原因, PLA₂G2A 很可能在胃癌的发病机制中不是传统的癌基因或肿瘤抑制基因。胃

癌细胞中 PLA2G2A 真正的机制和影响,特别是其在幽门螺杆菌相关胃癌中发生的作用,应进一步研究。从理论上讲,幽门螺杆菌感染可能诱导化生肠黏膜中潘氏细胞分泌 PLA2G2A。反之,蛋白质可能通过其抗菌活性改变的肠细菌菌群,最终影响幽门螺杆菌有关的胃肿瘤发生。因此,在发生幽门螺杆菌感染与胃癌中 PLA2G2A 的表达之间的关联须进一步调查。此外,通过 PLA2G2A 赋予的对胃癌发展的抵抗可能与其催化产生花生四烯酸的能力部分相关。有研究表明增加细胞内花生四烯酸含量可通过神经酰胺依赖性途径促进细胞周期阻滞和凋亡^[21]。尽管 IVA 族 PLA₂(PLA2G4A)是负责花生四烯酸释放的主要同种型,PLA2G2A 表达可使花生四烯酸的累积增加。因此,有必要检查 PLA2G2A 和胃癌中 PLA2G4A 表达之间的相关性。通过与非癌组织相比,观察到胃肿瘤 PLA2G4A 的表达降低^[22]。特别是发现 PLA2G2A 和 PLA2G4A 表达之间存在微弱的相关性(非参数 Spearman 相关 $r=0.157, P<0.001$)。这些结果表明 PLA2G2A 和 PLA2G4A 均通过合作或功能耦合参与其作用机理。

3.2 PLA₂与生殖系统肿瘤

3.2.1 PLA₂与前列腺癌的关系 前列腺癌是美国人群癌症死亡中的第二大原因。激素消融疗法主要治疗晚期前列腺癌,仅暂时减缓前列腺癌的发展,并在所有受试者中终将失败。在临床决策中使用的标准诊断及预后模式包括前列腺素原检测(PSA)、组织病理、Gleason 评分和成像。虽然这些因素提供了有意义的临床资料,但其均有局限性。PSA 测试缺乏敏感性和特异性,并在前列腺癌的监测中未被验证^[23]。组织活检可产生抽样误差,可能导致误诊,而成像检查可能漏掉小肿瘤。Gleason 评分仍然是唯一的方式,这已被确认与高风险疾病的存在有关。遗憾的是到目前为止没有经过验证的与肿瘤发生及疾病发展相关的预后标志物。肿瘤是一种由各种信号转导通路的多个基因突变的逐渐累积引起的复杂疾病,包括细胞周期、细胞生长、细胞凋亡、代谢和炎症反应途径。前列腺癌具有显著异质性和遗传不稳定性,并且考虑到抵抗激素治疗和(或)化疗效的发展,其可作为备用信号通路建立并避开有针对性的标准治疗方法。有研究证实高的 EGFR/HER2-PI3K-Akt-NF- κ B 信号通路和炎症反应参与许多癌症包括前列腺癌的发生与发展。有研究发现 41.4% 的前列腺癌患者在治疗之前表皮生长因子受体 EGFR 过度表达,30% 的患者在雄激素消融治疗之前 HER2 也过度表达,而 65% 的前列腺癌患者的雄激素消融疗法失败^[24]。

PLA₂是磷脂水解酶,可介导生物活性脂肪酸和溶血磷脂,如花生四烯酸(AA)和溶血磷脂酰胆碱的释放,其分别是类二十烷酸和血小板活化因子的前体^[25]。sPLA₂-II A 的产物 AA 能激活 PI3K-Akt 信号,导致 NF- κ B 及许多炎症前 NF- κ B 靶基因,如 COX-2、IL-6 和 IL-8 活化 NF- κ B^[26]。AA 亦可刺激类花生酸 PGE₂的合成导致前列腺肿瘤细胞增殖,促进肿瘤血管生成和转移^[24]。此外,sPLA₂-II A 表达的增强与雄激素独立相关,与自发 TRAMP 前列腺癌模式中更具攻击性的肿瘤表型同样相关。最后,直接抑制类花生酸信号导致小鼠模型中前列腺癌复原^[25]。有研究^[27]发现相对于亲代的雄激素依赖细胞系 LNCaP,在雄激素非依赖性前列腺癌 LNCaP-AI 细胞中 sPLA₂-II A 过度表达。与 LNCaP 细胞相比,LNCaP-AI 细胞也可向媒介分泌较高水平的 sPLA₂-II A。这些发现表明 sPLA₂-II A 可能有益于雄激素非依赖性生长。进一步研究发现 sPLA₂-II A 的过度表达可能是增强 HER/HER2-PI3K-Akt-NF- κ B 信号通路的结果。相对于从无癌症志愿者血浆中获得的相关标本,所有受检的前列腺癌患者 sPLA₂-II A 升高。血清较高水平的 sPLA₂-II A 与晚期患者肿瘤发展增加有关。这些数据表明血清中 sPLA₂-II A 是前列腺癌中一个潜在的替代生物标志物,并是 HER/HER2-PI3K-Akt-NF- κ B 途径靶向治疗的基础。

3.2.2 PLA₂与卵巢癌的关系 上皮性卵巢癌是导致女性死亡的主要原因之一。卵巢癌发病隐匿,大多数患者发现时已到晚期。尽管有许多药物能缓解患者症状,但总体死亡率仍较高。因此,卵巢癌的早发现早治疗对于挽救癌症患者的生命尤为重要,而 PLA2G2A 就是一个十分有前景的新方向。PLA2G2A 在上皮性卵巢癌细胞中表达较低,其启动子区域特定位点的甲基化是导致其表达的机制之一;PLA2G2A 过度表达可明显抑制卵巢癌细胞的增殖、侵袭、迁移,并诱导细胞周期 G₁期停滞及抑制 HUVEC 的迁移,这些可能通过降解 β -catenin 的磷酸化实现。有报道^[27]卵巢癌细胞分泌的溶血磷脂酸(LPA)可刺激卵巢癌细胞增殖、浸润和血管再生介质水平增高;而分泌性磷脂酶 A₂(sPLA₂)是产生 LPA 的限速酶,并在诱导 LPA 产生中起关键作用。

4 展望

越来越多的研究表明,PLA2G2A 存在于多种疾病,特别是在晚期恶性肿瘤患者的血清和渗出液中 PLA2G2A 含量显著增加。此外,与相应的非肿瘤组织相比,PLA2G2A 在某些肿瘤组织中的表达显著提高,这些肿瘤组织来源于肝脏、乳腺及前列腺。一些体内试验进一步证实 PLA2G2A 的表达导致人类星形

细胞瘤及食管腺癌细胞的增殖,用特异性PLA2G2A抑制剂或基因敲除来减缓肿瘤的生长^[28]。因此,PLA2G2A作为人类癌症治疗的新靶点,可能成为肿瘤的早期预测指标,并为肿瘤的早期监测与个体化治疗提供强有力的依据。

参考文献

- Scott KF, Sajinovic M, Hein J, et al. Emerging roles for phospholipase A2 enzymes in cancer[J]. *Biochimie*, 2010, 92(6):601–610.
- Kamčeva T, Radisavljević M, Vukićević I, et al. Interactions of platinum and ruthenium coordination complexes with pancreatic phospholipase A(2) and phospholipids investigated by MALDI TOF mass spectrometry[J]. *Chem Biodivers*, 2013, 10(11):1972–1986.
- Dennis EA, Cao J, Hsu YH, et al. Phospholipase A₂ enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention[J]. *Chem Rev*, 2011, 111(10):6130–6185.
- Rozenfeld J, Tal O, Kladnitsky O, et al. Pendrin, a novel transcriptional target of the uroguanylin system[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(7):221–237.
- Schaloske RH, Dennis EA. The phospholipase A₂ superfamily and its group numbering system [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1761(11):1246–1259.
- Wang D, Dubois RN. Eicosanoids and cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(3):181–193.
- Murakami M, Taketomi Y, Sato H, et al. Secreted phospholipase A₂ revisited[J]. *J Biochem*, 2011, 150(3):233–255.
- Dong Z, Liu Y, Scott KF. Secretory phospholipase A₂-II a is involved in prostate cancer progression and may potentially serve as a biomarker for prostate cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(11):1948–1955.
- Alberti D, van't Erve M, Stefania R, et al. A quantitative relaxometric version of the ELISA test for the measurement of cell surface biomarkers[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(13):3488–3491.
- Ojetti V, Persiani R, Cananzi FC, et al. cDNA-Microarray analysis as a new tool to predict lymph node metastasis in gastric cancer[J]. *World J Surg*, 2014, 38(8):2058–2064.
- Avoranta T, Sundström J, Korkeila E, et al. The expression and distribution of group II A phospholipase A₂ in human colorectal tumours[J]. *Virchows Arch*, 2010, 457(6):659–667.
- Jin Y, Yang F, Du L. Nanoassemblies containing a fluorouracil/zidovudine glyceryl prodrug with phospholipase A₂-triggered drug release for cancer treatment[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, 112(12):421–428.
- Fijneman RJ, Bade LK, Peham JR, et al. Pla2g2a attenuates colon tumorigenesis in azoxymethane-treated C57BL/6 mice; expression studies reveal Pla2g2a target genes and pathway[J]. *Cell Oncol*, 2009, 31(5):345–356.
- Mercader AG, Pomilio AB. Naturally-occurring dimers of flavonoids as anticarcinogens[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2013, 13(8):1217–1235.
- Wang X, Huang CJ, Yu GZ, et al. Expression of group IIA phospholipase A2 is an independent predictor of favorable outcome for patients with gastric cancer[J]. *Hum Pathol*, 2013, 44(10):2020–2027.
- Li S, Zhao X, Wu Z, et al. Polymorphisms in arachidonic acid metabolism-related genes and the risk and prognosis of colorectal cancer[J]. *Fam Cancer*, 2013, 12(4):755–765.
- Xing XF, Li H, Zhong XY, et al. Phospholipase A₂ group II A expression correlates with prolonged survival in gastric cancer[J]. *Histopathology*, 2011, 59(2):198–206.
- Wang X, Huang CJ, Yu GZ, et al. Expression of group II A phospholipase A₂ is an independent predictor of favorable outcome for patients with gastric cancer[J]. *Hum Pathol*, 2013, 44(10):2020–2027.
- McGuckin MA, Lindén SK, Sutton P, et al. Mucin dynamics and enteric pathogens[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9(4):265–278.
- Ganesan K, Ivanova T, Wu Y, et al. Inhibition of gastric cancer invasion and metastasis by PLA2G2A, a novel beta-catenin/TCF target gene[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(11):4277–4286.
- Ilsley JN, Nakanishi M, Flynn C, et al. Cytoplasmic phospholipase A2 deletion enhances colon tumorigenesis[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(7):2636–2643.
- Zhang X, Wu Q, Gan L, et al. Reduced group IVA phospholipase A2 expression is associated with unfavorable outcome for patients with gastric cancer[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(1):454.
- Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL 3rd, et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(13):1310–1319.
- Hughes-Fulford M, Li CF, Boonyaratankornkit J, et al. Arachidonic acid activates phosphatidylinositol 3-kinase signaling and induces gene expression in prostate cancer[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(3):1427–1433.
- Jain S, Chakraborty G, Raja R, et al. Prostaglandin E2 regulates tumor angiogenesis in prostate cancer[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(19):7750–7759.
- Patel MI, Singh J, Niknami M, et al. Cytosolic phospholipase A2-alpha: a potential therapeutic target for prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(24):8070–8079.
- Martín R, Hernández M, Ibeas E, et al. Secreted phospholipase A2-IIA modulates key regulators of proliferation on astrocytoma cells[J]. *J Neurochem*, 2009, 111(4): 988–999.
- Zhou XJ, Li GH. Function of tumor-associated macrophages in gastric cancer[J]. *Chin J Clin Oncol*, 2013, 40(20):1261–1263. [周锡进, 李国华. 肿瘤相关巨噬细胞在胃癌中的作用[J]. 中国肿瘤临床, 2013, 40(20):1261–1263.]

(2014-05-09 收稿)

(2014-07-22 修回)

(本文编辑:邢颖)

作者简介

张学慧 主管技师。专业方向为肿瘤临床检验。

E-mail: Zhangxuehui@163.com

