

磷脂酶 C- γ 1 在肿瘤中的表达及其意义

朱东旺综述 钟来平 张志愿审校

(上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔颌面-头颈肿瘤外科;
上海市口腔医学重点实验室 上海 200011)

[摘要] 肿瘤转移是癌症患者死亡的主要原因,而肿瘤转移与肿瘤细胞的增殖和侵袭密切相关。因磷脂酶 C- γ 1 过表达增强肿瘤细胞的增殖和侵袭能力,故其可能成为肿瘤靶向治疗的潜在靶点。本文就磷脂酶 C- γ 1 在细胞活动性中的作用,促进肿瘤的发展和扩散,在肿瘤发展转移中的机制等研究进展作一综述。

[关键词] 磷脂酶C- γ 1; 肿瘤; 转移; 侵袭

[中图分类号] Q 55 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1673-5749.2012.06.019

Expression and its significance of phospholipase C- γ 1 in tumors Zhu Dongwang, Zhong Laiping, Zhang Zhiyuan. (Dept. of Oral and Maxillofacial-Head and Neck Tumor Surgery, School of Medicine, The Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200011, China; Shanghai Key Laboratory of Stomatology, Shanghai 200011, China)

[Abstract] Metastasis is the main cause of death in the patients with cancers, which is associated closely with cellular proliferation and invasion. The overexpression of phospholipase C- γ 1 can increase the ability of cancerous cells to invade and metastasize, so it maybe a therapeutic potential to counteract the metastatic dissemination. This paper reviewed the literatures about the significance of phospholipase C- γ 1 in the motility of cells, increasing the ability of cancerous cells to invade and metastasize, and the mechanisms of tumor migration and invasion.

[Key words] phospholipase C- γ 1; tumor; metastasis; invasion

磷脂酶C(phospholipase C, PLC)与细胞的增殖和分化有关,至今已发现 11 种哺乳类动物磷脂酶 C 同工酶,并分为 PLC- β 、PLC- γ 、PLC- ϵ 和 PLC- δ 四大类型^[1],每一类型还有亚型,如 PLC- γ 有 PLC- γ 1 和 PLC- γ 2 两个亚型。PLC- γ 1 在人体细胞中广泛表达,而 PLC- γ 2 主要表达于造血干细胞^[2]。PLC- γ 1 基因位于 20q12~q13.1, 序列号 5335。PLC- γ 1 基因编码的相对分子质量约为 1.48×10^5 的蛋白质,含 X、Y、C₂ 和 PH 结构域各一个。X 和 Y 结构域为催化功能域,折叠在一起形成催化位点; C₂ 结构域介导与钙/磷脂相互作用; PH 结构域识别多磷脂酰肌醇,后两者可能是水解磷酸酰肌醇二磷酸(phosphatidylinositol bis-phosphate, PIP₂)所必需的结构。

另外, PLC- γ 1 特有两个 SH₂(src homology 2) 和一个 SH₃(src homology 3) 结构域, PLC- γ 1 通过 SH₂ 结构域作用于细胞膜上的 PIP₂, 将其分解为二酰甘油(diacylglycerol, DAG)和肌醇三磷酸(inositol triphosphate, IP₃)。DAG 可以激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC), IP₃ 可引起细胞内钙库释放钙离子。细胞内的钙离子浓度增高和 PKC 的激活对各种细胞活性至关重要。SH₃ 结构域为 PLC- γ 1 调节生长因子诱导的细胞有丝分裂所必需^[3]。PLC- γ 1 可被受体或受体酪氨酸激酶激活,这些激酶大多属于生长因子受体超家族,其中包括表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、血小板衍生生长因子、神经生长因子、血管内皮生长因子、成纤维细胞生长因子、造血生长因子和胰岛素生长因子等等。PLC- γ 1 信号通路的下游包括 PKC、Raf-1、促丝裂原激活蛋白激酶、三元复合因子、Jun、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)和热休克蛋白(heat shock protein, HSP)-70 等^[4-6],但是 PLC- γ 1 在机体中的作用机制目前尚不清楚。

[收稿日期] 2012-03-04; **[修回日期]** 2012-08-13

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30973344); 上海市科学技术委员会基金资助项目(1052nm04700, 10140902200); 上海交通大学医工交叉基金资助项目(YG2010MS49)

[作者简介] 朱东旺(1986—),男,河北人,硕士

[通讯作者] 钟来平, Tel: 021-23271699-5160

1 PLC- γ 1 在细胞活动性中的作用

PLC- γ 1 为生长因子诱导的细胞活动增加所必需, Wells 等^[7]应用成纤维细胞、角蛋白细胞、软组织上皮细胞、神经胶质细胞和癌细胞验证了这点。当生长因子与相应的受体连接时, PLC- γ 1 从细胞质聚集到细胞膜内表面, 通过其 SH₂ 结构域与受体酪氨酸激酶的酪氨酸磷酸基结合, PLC- γ 1 的两个特定的酪氨酸(783和1253)被磷酸化激活, 锚定在细胞内膜的受体-PLC- γ 1 复合体水解 PIP₂ 成 DAG 和 IP₃, 进而分别激活 PKC 和诱导细胞内钙离子储库释放钙离子。另外, 应用 PLC 抑制剂 U73122 可明显减少体外 EGF 诱导的人结直肠癌细胞系(LoVo)细胞的活动性, 抑制其迁移^[8]。PLC- γ 1 表达上调对细胞的有丝分裂有重要的促进作用。

PLC- γ 1 的干扰 RNA 可阻断 EGF 诱导的鳞状细胞癌细胞的有丝分裂过程, 表明敲除 PLC- γ 1 基因可阻断 EGF 诱导的鳞状细胞癌细胞的有丝分裂, 但单单敲除 PLC- γ 1 基因的催化活性结构域并不能收到相同的效果, 然而, 敲除其 SH₃ 结构域却能消除 PLC- γ 1 诱导的有丝分裂作用。这表明 PLC- γ 1 有促进有丝分裂的作用且不依赖于其脂肪酶的活性^[9], SH₃ 结构域对 PLC- γ 1 促进有丝分裂不可缺少^[3]。PLC- γ 1 是细胞分裂增殖和活性调节中的一个重要的分子, 起到了关键性的作用, 但人们对 PLC- γ 1 在细胞有丝分裂中作用的意见还不统一。Wells 等^[7]认为: PLC- γ 1 信号通路在细胞有丝分裂中不起决定性的作用; 虽然在特定的情况下, PLC- γ 1 与细胞的有丝分裂信号有关, 但在肿瘤细胞中, 阻断 PLC- γ 1 信号通路, 细胞的有丝分裂仍可发生。

2 PLC- γ 1 促进肿瘤的发展和扩散

在肿瘤细胞中, PLC- γ 1 表达量增高, 人乳腺癌、结肠直肠癌、鳞状细胞癌、前列腺癌、肺癌、人多形性胶质母细胞瘤和家族性腺瘤息肉病的肿瘤部位都有 PLC- γ 1 的过表达^[9-15]。Park 等^[15]在检测了家族性腺瘤息肉病患者结肠肿瘤部位和健康部位黏膜中 PLC 的含量后发现, PLC- γ 1 的含量及活性按健康部位和肿瘤部位的顺序逐渐升高。Diakonova 等^[16]发现, 细胞核内的 PLC- γ 1 的水平取决于细胞的转化程度, 在早期人胚皮肤或肺纤维组织的细胞核中未检测到 PLC- γ 1, 这就说

明 PLC- γ 1 只存在于恶性转化细胞的细胞核中。生长因子受体的活性与肿瘤的转移和侵袭有关, 生长因子活性的上调可导致 PLC- γ 1 信号通路的上调, PLC- γ 1 表达增加可促进肿瘤的转移和侵袭。抑制 PLC- γ 1 信号通路可阻断人多形性胶质母细胞瘤体外组织块向健康的脑组织侵袭^[14]。类似的 PLC- γ 1 化学抑制药物和分子抑制物可阻断动物模型中的前列腺癌细胞的侵袭^[12]。在体外的膀胱、乳腺和头颈部鳞状细胞癌细胞侵袭模型中, 癌细胞的穿膜也可被 PLC- γ 1 抑制剂阻断^[8, 17-18]。

同一肿瘤可能由不同的生长因子通过相应的受体上调而诱导产生并促进其发展, 例如在多形性胶质母细胞瘤中, EGF 受体的上调不但与其在中枢神经系统中的侵袭有关, 而且还与血小板衍生生长因子、神经生长因子和胰岛素样生长因子有关; 但是, 不论是血小板衍生生长因子和神经生长因子还是胰岛素样生长因子所诱导的 EGF 受体上调, 阻断 PLC 信号通路都可阻断胶质母细胞瘤细胞向健康的脑组织侵袭^[14]。这说明即使有各种受体的上调, 但是锚定下游通路的汇聚点也是有意义的, 可为肿瘤的靶向治疗提供可能。

3 PLC- γ 1 在肿瘤发展和转移中的机制

PLC- γ 1 信号通路促进肿瘤转移的机制尚不清楚, 有研究认为可能与增加细胞内的钙离子、激活 PKC 和促进细胞骨架的重构等有关。PLC- γ 1 受到生长因子刺激而磷酸化, 可以水解 PIP₂ 成 DAG 和 IP₃ 进而分别激活 PKC 和诱导细胞内钙离子储库释放钙离子, 细胞内 PKC 活性和钙离子浓度与细胞的活动性相关。研究^[6]显示, PLC- γ 1 在人结肠癌的转移中起关键性的作用, 而且 NF- κ B 活性的上调和 HSP-70 表达的下调皆依赖于 PLC- γ 1, NF- κ B 和 HSP-70 是 PLC- γ 1 的下游递质。PLC- γ 1 的激活对细胞骨架的改变和肿瘤转移过程具有重要作用。PLC- γ 1 直接激活人肌动蛋白, 而且人肌动蛋白是肿瘤细胞转移和侵袭的重要调节器, 其活性受 PLC 调节^[19-20]。PLC- γ 1 调节肿瘤细胞的远处转移和局部侵袭是通过调节细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)实现的, ERK 与肿瘤细胞的迁移、侵袭和转移有关, PLC- γ 1 的下调通过抑制 ERK 的激活损坏人乳腺癌细胞系(MDA-MB-231)的层粘连蛋白和纤维连接蛋白的伸展; 另外, 还损坏 EGF 诱导的 ERK 的活性。这就表明, ERK 很有可能是

PLC- γ 1 信号通路下游的一个作用物^[17]。

磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI₃K)和Rac是细胞极化和转移的关键调节器,而且相互调节^[21]。干扰RNA介导的Rac可抑制胶质母细胞和乳腺癌细胞板状伪足的形成和转移,表明Rac与肿瘤细胞的迁移和侵袭有关^[22]。PLC- γ 1调节乳腺癌细胞系中Rac的活性,而且PI₃K的脂质产物可促进PLC- γ 1的激活^[23],可以说PLC- γ 1是细胞内PI₃K和Rac活性的链接点。此外,PLC- γ 1表达下调可诱导肿瘤转移灶减小甚至消失,PLC- γ 1不仅在肿瘤转移的早期对肿瘤细胞的侵袭性和转移性起作用,还在肿瘤转移的晚期也起重要的作用,而且PLC- γ 1表达下调促进肿瘤消退的作用具有转移特异性,因为PLC- γ 1对原位肿瘤的作用并不明显。同时,PLC- γ 1与黏附斑的形成和细胞与微环境的作用有关,故推测可能缘于PLC- γ 1的缺失导致细胞与微环境作用缺失而引起肿瘤转移灶的消退。应用小干扰RNA敲除人前列腺癌细胞系的PLC- γ 1基因,可诱导细胞之间的黏附斑的缺失^[24]。

4 小结

虽然目前对PLC- γ 1信号通路在肿瘤生物学中的作用机制还不完全清楚,还需要大量的研究来揭示其组成和对下游基因表达的影响,但可以肯定的是,PLC- γ 1信号通路在肿瘤的发展、侵袭和转移中起重要的作用。对PLC- γ 1信号通路的调控可以抑制肿瘤的发展和转移,而且PLC- γ 1在该信号通路中起到了关键性的节点作用,PLC- γ 1将是肿瘤靶向治疗的一个十分有前景的分子靶点。

5 参考文献

- [1] Song C, Hu CD, Masago M, et al. Regulation of a novel human phospholipase C, PLCepsilon, through membrane targeting by Ras[J]. J Biol Chem, 2001, 276(4): 2752-2757.
- [2] Liao HJ, Kume T, McKay C, et al. Absence of erythropoiesis and vasculogenesis in Pleg1-deficient mice[J]. J Biol Chem, 2002, 277(11): 9335-9341.
- [3] Xie Z, Chen Y, Pennypacker SD, et al. The SH₃ domain, but not the catalytic domain, is required for phospholipase C-gamma 1 to mediate epidermal growth factor-induced mitogenesis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 398(4): 719-722.
- [4] Huang J, Mohammadi M, Rodrigues GA, et al. Reduced

activation of RAF-1 and MAP kinase by a fibroblast growth factor receptor mutant deficient in stimulation of phosphatidylinositol hydrolysis[J]. J Biol Chem, 1995, 270(10): 5065-5072.

- [5] Kolch W, Heidecker G, Kochs G, et al. Protein kinase C alpha activates RAF-1 by direct phosphorylation[J]. Nature, 1993, 364(6434): 249-252.
- [6] Li X, Hua L, Deng F, et al. NF-kappaB and Hsp70 are involved in the phospholipase C gamma 1 signaling pathway in colorectal cancer cells[J]. Life Sci, 2005, 77(22): 2794-2803.
- [7] Wells A, Kassis J, Solava J, et al. Growth factor-induced cell motility in tumor invasion[J]. Acta Oncol, 2002, 41(2): 124-130.
- [8] Kassis J, Radinsky R, Wells A. Motility is rate-limiting for invasion of bladder carcinoma cell lines[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2002, 34(7): 762-775.
- [9] Xie Z, Chen Y, Liao EY, et al. Phospholipase C-gamma 1 is required for the epidermal growth factor receptor-induced squamous cell carcinoma cell mitogenesis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 397(2): 296-300.
- [10] Arteaga CL, Johnson MD, Todderud G, et al. Elevated content of the tyrosine kinase substrate phospholipase C-gamma 1 in primary human breast carcinomas[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991, 88(23): 10435-10439.
- [11] Noh DY, Lee YH, Kim YI, et al. Elevated content of phospholipase C-gamma 1 in colorectal cancer tissues[J]. Cancer, 1994, 73(1): 36-41.
- [12] Mamouni A, Kassis J, Kharait S, et al. DU145 human prostate carcinoma invasiveness is modulated by urokinase receptor(uPAR) downstream of epidermal growth factor receptor(EGFR) signaling[J]. Exp Cell Res, 2004, 299(1): 91-100.
- [13] Kochhar KS, Iyer AP. Hepatocyte growth factor induces activation of Nck and phospholipase C-gamma in lung carcinoma cells[J]. Cancer Lett, 1996, 104(2): 163-169.
- [14] Khoshyomn S, Penar PL, Rossi J, et al. Inhibition of phospholipase C-gamma 1 activation blocks glioma cell motility and invasion of fetal rat brain aggregates[J]. Neurosurgery, 1999, 44(3): 568-577.
- [15] Park JG, Lee YH, Kim SS, et al. Overexpression of phospholipase C-gamma 1 in familial adenomatous polyposis [J]. Cancer Res, 1994, 54(8): 2240-2244.
- [16] Diakonova M, Chilov D, Arnaoutov A, et al. Intracellular distribution of phospholipase C gamma 1 in cell lines with different levels of transformation[J]. Eur J Cell Biol, 1997, 73(4): 360-367.
- [17] Sala G, Dituri F, Raimondi C, et al. Phospholipase C-gamma 1 is required for metastasis development and progression[J]. Cancer Res, 2008, 68(24): 10187-10196.
- [18] Thomas SM, Coppelli FM, Wells A, et al. Epidermal

- [10] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001 349-354.
- [11] 孙拓祺, 王瑶, 段星宇, 等. KaVo KEY激光对感染根管和根面粪肠球菌杀菌效果的体外研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2010, 28(4) 370-377.
- [12] Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BP, et al. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth *ex vivo*[J]. Int Endod J, 2005, 38(10) 697-704.
- [13] Jin LQ, Li JW, Wang SQ, et al. Detection and identification of intestinal pathogenic bacteria by hybridization to oligonucleotide microarrays[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(48) 7615-7619.
- [14] 牛卫东, 宋其义, 王丽娜, 等. 再治疗根管内粪肠球菌检出及其与临床表征关系的分析研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2010, 28(5) 535-538.
- [15] Fouad AF, Zerella J, Barry J, et al. Molecular detection of *Enterococcus* species in root canals of therapy-resistant endodontic infections[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005, 99(1) 112-118.
- [16] Gomes BP, Pinheiro ET, Jacinto RC, et al. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction[J]. J Endod, 2008, 34(5) 537-540.
- [17] Gomes BP, Pinheiro ET, Sousa EL, et al. *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006, 102(2) 247-253.
- [18] Mahmoudpour A, Rahimi S, Sina M, et al. Isolation and identification of *Enterococcus faecalis* from necrotic root canals using multiplex PCR[J]. J Oral Sci, 2007, 49(3) : 221-227.
- [19] Williams JM, Trope M, Caplan DJ, et al. Detection and quantitation of *E.faecalis* by real-time PCR(qPCR), reverse transcription-PCR(RT-PCR), and cultivation during endodontic treatment[J]. J Endod, 2006, 32(8) :715-721.
- [20] Tronstad L, Langeland K. Effect of attrition on subjacent dentin and pulp[J]. J Dent Res, 1971, 50(1) :1-30.
- [21] Peters LB, Wesseling PR, Moorers WR. Penetration of bacteria in bovine root dentine *in vitro*[J]. Int Endod J, 2000, 33(1) 28-36.
- [22] Michelich VJ, Schuster GS, Pashley DH. Bacterial penetration of human dentin *in vitro*[J]. J Dent Res, 1980, 59(8) :1398-1403.
- [23] Fagrell TG, Lingström P, Olsson S, et al. Bacterial invasion of dentinal tubules beneath apparently intact but hypomineralized enamel in molar teeth with molar incisor hypomineralization[J]. Int J Paediatr Dent, 2008, 18(5) : 333-340.
- [24] Weiger R, de Lucena J, Decker HE, et al. Vitality status of microorganisms in infected human root dentine[J]. Int Endod J, 2002, 35(2) :166-171.
- [25] Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, et al. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules[J]. J Endod, 2004, 30(11) :778-781.
- [26] Zapata RO, Bramante CM, de Moraes IG, et al. Confocal laser scanning microscopy is appropriate to detect viability of *Enterococcus faecalis* in infected dentin[J]. J Endod, 2008, 34(10) :1198-1201.
- [27] Parmar D, Hauman CH, Leichter JW, et al. Bacterial localization and viability assessment in human *ex vivo* dentinal tubules by fluorescence confocal laser scanning microscopy[J]. Int Endod J, 2011, 44(7) :644-651.
- [28] Aziz A, Parmar D, McNaughton A, et al. Bacterial viability determination in a dentinal tubule infection model by confocal laser scanning microscopy[J]. Methods Mol Biol, 2010, 666 :141-150.

(本文编辑 刘世平)

(上接第 777 页)

- growth factor receptor-stimulated activation of phospholipase C gamma 1 promotes invasion of head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancer Res, 2003, 63(17) : 5629-5635.
- [19] Wang W, Eddy R, Condeelis J. The cofilin pathway in breast cancer invasion and metastasis[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(6) :429-440.
- [20] Mounieimne G, Soon L, DesMarais V, et al. Phospholipase C and cofilin are required for carcinoma cell directionality in response to EGF stimulation[J]. J Cell Biol, 2004, 165(5) :697-708.
- [21] Barber MA, Welch HC. PI₃K and RAC signaling in leukocyte and cancer cell migration[J]. Bull Cancer, 2006, 93(5) :E44 - E52.
- [22] Chan AY, Coniglio SJ, Chuang YY, et al. Roles of the Rac1 and Rac3 GTPases in human tumor cell invasion[J]. Oncogene, 2005, 24(53) :7821-7829.
- [23] Falasca M, Logan SK, Lehto VP, et al. Activation of phospholipase C gamma by PI 3-kinase-induced PH domain-mediated membrane targeting[J]. EMBO J, 1998, 17(2) :414-422.
- [24] Peak JC, Jones NP, Hobbs S, et al. Phospholipase C gamma 1 regulates the Rap GEF1-Rap1 signalling axis in the control of humane prostate carcinoma cell adhesion [J]. Oncogene, 2008, 27(20) 2823-2832.

(本文编辑 刘世平)