

β-防御素的抗肿瘤活性及其与 口腔癌相关性的研究进展

李艳忠 但红霞 刘娜综述 陈谦明 曾昕审校
(四川大学华西口腔医院黏膜科 成都 610041)

[摘要] 防御素是在植物以及动物界广泛存在的一类阳离子多肽, 是抗菌肽(一类具有广谱抗菌作用的短链多肽)中具有代表性的亚家族, 是十分保守的宿主防御分子。至今为止, 已发现多种防御素。人β-防御素(hBD)是其中的重要成员, 具有很强的杀菌活性、趋化活性、调节吞噬细胞及获得性免疫等功能。此外, hBD还具有抗肿瘤活性, 且与口腔癌有着密切的相关性, 可能为肿瘤的临床防治提供新的策略。

[关键词] β-防御素; 抗肿瘤活性; 口腔癌

[中图分类号] Q 51 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1673-5749.2011.02.014

Research progress on the anti-tumor activity of beta-defensins and its correlation with oral carcinoma

LI Yan-zhong, DAN Hong-xia, LIU Na, CHEN Qian-ming, ZENG Xin. (Dept. of Oral Medicine, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Defensins are a class of cationic peptides which is widely found in plants and animals, and are a representative sub-clan of antimicrobial peptides family (Antimicrobial peptides are a kind of short-chain peptide of broad-spectrum antimicrobial effects) and a very conservative host defense molecules. So far, a variety of defensins have been found. Human beta defensin (hBD) play an important role in these defensins, and have a strong bactericidal activity, chemotactic activity, regulatory function of phagocytic cells and acquired immune etc. In addition, several researches also found that hBD have an anti-tumor activity, and are closely related with oral carcinoma. Therefore, hBD may provide a new strategy for the prevention and treatment of the tumor.

[Key words] beta-defensin; anti-tumor activity; oral carcinoma

防御素是在植物以及动物界广泛存在的一类保守的宿主防御分子, 是抗菌肽中具有代表性的亚家族。虽然在氨基酸序列以及高级结构上有很大差异, 但它们在生理条件下都是带正电荷的、有膜活性的两性分子。至今为止, 已发现多种防御素。人β-防御素(human beta defensin, hBD)是防御素家族的重要成员, 具有很强的杀菌活性, 对细菌、真菌、被膜病毒都有抗菌活性, 且几乎无耐药问题。此外, hBD还具有趋化活性、调节吞噬细胞的功能、调节获得性免疫等功能。近期的研究发现: hBD对多种肿瘤细胞具有杀伤作用, 在肿瘤形成过程中亦有重要作用, 提示其还

具有抗肿瘤活性。本文主要就hBD的抗肿瘤活性及其与口腔癌的相关性作一综述。

1 hBD的基本特征

1.1 hBD的组织分布

1995年 Bensch等^[1]从尿毒症患者透析液中分离得到了hBD-1, 此后又相继发现了在皮肤、黏膜中广泛表达的hBD-2~6。其中hBD-1可以在肺、肾脏、呼吸道和泌尿生殖道、乳腺、胰腺、小肠、颊舌黏膜、牙龈组织、唾液腺、眼房水和玻璃体、扁桃体、中耳等多处表达。hBD-2可在损伤的皮肤、口腔黏膜、被感染的肺部上皮表达, 主要堆积在上皮的板层状小体内^[2]。hBD-3在人的角化细胞和气道上皮细胞内表达, 也在成年人的心脏、骨骼肌、牙龈、胎盘以及胎儿的胸腺内表达, 正常情况下在皮肤和扁桃体中分布最多, 而在呼吸道、消化道和泌尿道分布较少^[3]。

[收稿日期] 2010-04-06; **[修回日期]** 2010-10-30

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30772424、30930100、81072218)

[作者简介] 李艳忠(1983—), 男, 黑龙江人, 硕士

[通讯作者] 曾昕, Tel: 028-85503480

hBD-4 主要在睾丸、鼻窦表达,在中性粒细胞、子宫、甲状腺、肺、肾中的表达很少,但呈持续性表达^[4]。hBD-5 仅在睾丸和附睾表达^[5]。hBD-6 主要在睾丸和附睾表达,在肺、气管浆液性细胞与非杯状细胞中也有表达。

1.2 hBD 的基因和蛋白结构

hBD 基因簇定位于第 8 条染色体的 p22~23 区间, hBD-1 基因约为 7 000 kb, 有 1 个内含子和 2 个相对较小的外显子, 第一个外显子编码信号肽和原片段, 第二个编码成熟肽。hBD-2 基因的内含子则比前者小得多, 2 个外显子分别编码信号肽与原片段; 并且 hBD-2 基因上含有多个核因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 结合位点。hBD-3 基因位于与其同向转录的 hBD-2 基因的上游约 13 kb 处, hBD-3 基因序列与 hBD-2 几乎完全相同, 提示两者之间高度同源。hBD-4 基因的 2 个外显子被 1 个约 4.5 kb 的内含子分隔, 1 个外显子编码大部分信号肽序列, 信号肽的剩余部分、原片段和成熟肽则由另一个外显子编码, 上游区域包含 AP-1 和 GATA-1 的结合位点^[4]。

hBD 是由 3 条 β 折叠片段和 1 个 α 螺旋组成的双歧分子, 成熟的 hBD 由 41~50 个氨基酸残基组成, 在 6 个保守的半胱氨酸残基中, 1-5、2-4、3-6 分别相连, 形成 3 对二硫键, hBD-4、5 与 hBD-1~3 相比, 在第二个和第三个半胱氨酸之间、第四个和第五个半胱氨酸之间分别少了 1 个氨基酸残基^[4]; hBD-3 的氨基酸序列与 hBD-2 约有 43% 同源性^[3], hBD-4 与 hBD-1~3 的氨基酸同源序列只有 20%~25%^[4]。hBD 前体比成熟肽长, 带负电荷, 而成熟的防御素带正电荷, 后者可被其前体负电荷平衡; 此外, 其前体还可帮助防御素正确的折叠。

1.3 hBD 的功能

hBD 有很强的抗微生物活性, 且抗菌谱较广, 对多种微生物(包括多种耐药菌)均有杀伤作用。hBD 可能有助于控制人类免疫缺陷病毒 1 型 (human immunodeficiency virus-type 1, HIV-1) 在体内的复制。Quiñones-Mateu 等^[6]证实, HIV-1 可以诱导人口腔上皮细胞中 hBD-2、3 的表达, 外源性 hBD-2、3 在体外能够抑制 HIV-1 的复制, 并呈剂量依赖性。hBD 在机体的非特异性免疫反应中亦起到重要的作用。hBD-1 在人的正常皮肤和上皮组织中呈持续性表达, 与溶菌酶等非特异抗菌肽一起构成了人体表面的化学屏障。上皮组织中也

含有微量 hBD-2、3, 当其遇到微生物侵害时, 可诱导 hBD-2、3 的大量表达。此外, hBD-2 对未成熟的树突细胞和记忆 T 细胞有趋化作用^[7], 并且可以诱导肥大细胞游走和脱颗粒^[8], 使这些细胞朝着受致病微生物侵袭的炎症反应区迁移。研究发现: hBD 具有细胞毒性作用, 对多种肿瘤细胞具有杀伤作用, 且在肿瘤的形成过程中发挥着重要作用。

2 hBD 的抗肿瘤活性

利用激光显微切割、免疫组织化学、定量反转录聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 等技术, Donald 等^[9]发现: 在 90% 的肾透明细胞癌中 hBD-1 缺失表达, 在 82% 的前列腺癌中 hBD-1 缺失表达或少量表达。此外, Gambichler 等^[10]亦发现: 在非溃疡型基底细胞癌患者的病损组织中, hBD-1 mRNA 的表达较正常组织明显降低。hBD-1 在肿瘤与正常组织和细胞中表达的差异性表明其在肿瘤的形成过程中发挥着重要的作用。有研究^[11]认为: hBD-1 表达的缺失或抑制或许易与肿瘤细胞的生存与肿瘤的恶化有关, 亦影响到肿瘤的分期与复发。尤为重要的是, Sun 等^[12]发现: 外源性 hBD-1 可抑制膀胱癌细胞系 TSU-PR1 增殖, 同时, 利用基因转染技术发现: 高表达 hBD-1 的肾癌细胞系 SW156 可诱发 caspase-3 介导的凋亡过程, 由此他们认为: hBD-1 基因或许是位于第八条染色体上的候补抑癌基因。之后, Bullard 等^[11]通过对前列腺癌细胞系的研究, 亦发现 hBD-1 可以迅速诱导晚期前列腺癌细胞系 DU145、PC3 细胞的裂解及 caspase 介导的凋亡, 但对早期前列腺癌细胞系 LNCaP 无细胞毒性。亦证实 hBD-1 有抗肿瘤和抑制晚期肿瘤细胞的作用。此外, Arimura 等^[13]指出: 血清中 hBD-1 的水平可作为肺癌的辅助诊断工具。他们利用放射免疫分析法发现肺癌患者血清中 hBD-1 的浓度明显高于肺炎患者与健康人, 由此表明 hBD 在肿瘤的诊断中亦有重要的作用。

关于 hBD-2~4 在肿瘤中作用的研究尚少。研究发现: hBD-2 mRNA 在肿瘤组织中的表达较正常组织明显升高^[11]; hBD-3 mRNA 在肿瘤组织中的表达亦较正常组织明显升高^[4], 且 Shnitsar 等^[14]认为: hBD-3 的表达与外阴部肿瘤的恶性表型明显相关; 而 hBD-4 mRNA 的表达则主要表现为降低^[15]。hBD-2~4 在肿瘤与正常组织中表达的

差异性,表明其或许在肿瘤的形成过程中亦发挥着重要作用;但关于其对肿瘤细胞有无杀伤能力的研究甚少。

3 hBD与口腔癌

3.1 hBD与口腔鳞癌

早期,Abiko等^[16]通过对口腔鳞癌细胞系的研究发现:hBD-1 mRNA在多种口腔鳞癌细胞系中如:SAS、KB、Ca-9、HSC-4中呈表达的缺失或降低;hBD-2 mRNA在SCC-9、KB细胞系中呈表达的降低。由此,他们认为与正常的上皮比较,hBD-1、2在口腔鳞癌细胞系中表达的缺失或降低,或许致使其更易发生细菌感染。长期的感染和炎症刺激或许与癌的发生相关^[17]。

目前,已有研究发现hBD在口腔鳞癌的形成过程中发挥着重要的作用。利用定量RT-PCR技术,Wenghoefer等^[18]发现在刺激性纤维瘤(口腔良性肿瘤)、口腔白斑(口腔癌前病变)、口腔鳞癌中,hBD-1 mRNA的表达量与健康牙龈相比均下降。hBD-2 mRNA表达量在刺激性纤维瘤中表达增高,而在白斑与口腔鳞癌中均降低;hBD-3 mRNA则在刺激性纤维瘤、口腔白斑、口腔鳞癌中的表达均增高。其中hBD-1 mRNA在口腔鳞癌、刺激性纤维瘤、口腔白斑组织中表达量分别是健康牙龈的1/50、1/5、2/5;虽然其在健康牙龈、口腔良性肿瘤、口腔癌前病变、口腔鳞癌中表达量的下调为非线性趋势,但仍能说明hBD-1在口腔黏膜癌变过程中发挥着重要的作用,也表明其在口腔鳞癌细胞的凋亡与转录的调控中及口腔肿瘤的恶化过程中或许亦起着重要的作用。

此外,Kesting等^[19]通过对45例口腔鳞癌患者与健康人hBD-3 mRNA及其蛋白表达的检测,亦发现在口腔鳞癌组织中hBD-3 mRNA与蛋白的表达量明显高于健康人。由此他们认为高表达的hBD-3在口腔鳞癌的形成过程中有重要的作用,并指出这可能是肿瘤防治的一个药理和分子疗法的新起点。

3.2 hBD与口腔涎腺癌

早在1996年,Zhao等^[20]就发现hBD-1在口腔下颌下腺表皮样癌细胞系中呈持续性表达,任何处理因素均不能诱导hBD-1 mRNA的表达。通过对下颌下腺表皮样癌细胞系中hBD-1 mRNA在不同情况下表达的检测,发现其对各种处理因素如:脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、白细胞

介素-6(interleukin-6, IL-6)、乙酸肉豆蔻佛波醇(phorbol myristate acetate, PMA)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、LPS+IL-6、LPS+PMA、LPS+INF- γ 、LPS+TNF- α 均不敏感。

近期,利用免疫组织化学技术发现:hBD-1在健康涎腺与早期涎腺肿瘤中分布在细胞质,而在恶性涎腺肿瘤中转移到了细胞核;hBD-2在健康涎腺、早期及恶性涎腺肿瘤中均分布在细胞质;hBD-3亦主要分布在细胞质,但在腺样囊性癌中同时有弱的核染色。hBD-1在健康涎腺及早期涎腺肿瘤中与恶性涎腺肿瘤中由细胞质向核内分布的转变,说明其在涎腺肿瘤的形成过程及恶变过程中亦有重要作用^[21]。

4 总结和展望

hBD有多种生物学活性,在宿主防御及免疫应答中发挥着重要的作用,对多种肿瘤细胞具有杀伤作用,且在肿瘤的形成过程中亦有重要作用。但关于其抗肿瘤活性及其在口腔癌发生过程中作用的研究尚处于起步阶段,关于其作用详细的分子机制尚不明确,多以推测为主。有关其在体内作用如何、有无毒性或其他的不良反应等还需进一步全面多层次地研究,以期能够为肿瘤的临床防治提供新的策略。

5 参考文献

- [1] Bensch KW, Raida M, Mägert HJ, et al. hBD-1: A novel beta-defensin from human plasma[J]. FEBS Lett, 1995, 368(2):331-335.
- [2] Oren A, Ganz T, Liu L, et al. In human epidermis, beta-defensin 2 is packaged in lamellar bodies[J]. Exp Mol Pathol, 2003, 74(2):180-182.
- [3] Harder J, Bartels J, Christophers E, et al. Isolation and characterization of human beta-defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic[J]. J Biol Chem, 2001, 276(8):5707-5713.
- [4] García JR, Krause A, Schulz S, et al. Human beta-defensin 4: A novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity[J]. FASEB J, 2001, 15(10):1819-1821.
- [5] Yamaguchi Y, Nagase T, Makita R, et al. Identification of multiple novel epididymis-specific beta-defensin isoforms in humans and mice[J]. J Immunol, 2002, 169(5):2516-2523.
- [6] Quiñones-Mateu ME, Lederman MM, Feng Z, et al. Human epithelial beta-defensins 2 and 3 inhibit HIV-1 re-

plication[J]. AIDS, 2003, 17(16):F39-F48.

[7] Yang D, Chertov O, Bykovaika SN, et al. Beta-defensins: Linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6[J]. Science, 1999, 286(5439): 525-528.

[8] Niyonsaba F, Iwabuchi K, Matsuda H, et al. Epithelial cell-derived human beta-defensin-2 acts as a chemotaxin for mast cells through a pertussis toxin-sensitive and phospholipase C-dependent pathway[J]. Int Immunol, 2002, 14(4):421-426.

[9] Donald CD, Sun CQ, Lim SD, et al. Cancer-specific loss of beta-defensin 1 in renal and prostatic carcinomas[J]. Lab Invest, 2003, 83(4):501-505.

[10] Gambichler T, Skrygan M, Huyn J, et al. Pattern of mRNA expression of beta-defensins in basal cell carcinoma[J]. BMC Cancer, 2006, 6:163.

[11] Bullard RS, Gibson W, Bose SK, et al. Functional analysis of the host defense peptide Human Beta Defensin-1: New insight into its potential role in cancer[J]. Mol Immunol, 2008, 45(3):839-848.

[12] Sun CQ, Arnold R, Fernandez-Golarz C, et al. Human beta-defensin-1, a potential chromosome 8p tumor suppressor: Control of transcription and induction of apoptosis in renal cell carcinoma[J]. Cancer Res, 2006, 66(17):8542-8549.

[13] Arimura Y, Ashitani J, Yanagi S, et al. Elevated serum beta-defensins concentrations in patients with lung cancer[J]. Anticancer Res, 2004, 24(6):4051-4057.

[14] Shnitsar VM, Lisovskiy IL, Soldatkina MA, et al. Human beta-defensin 3 (hBD-3) expression in A431 cell line and human vulval tumors[J]. Exp Oncol, 2004, 26(4): 328-330.

[15] Shestakova T, Zhuravel E, Bolgova L, et al. Expression of human beta-defensins-1, 2 and 4 mRNA in human lung tumor tissue: A pilot study[J]. Exp Oncol, 2008, 30(2):153-156.

[16] Abiko Y, Mitamura J, Nishimura M, et al. Pattern of expression of beta-defensins in oral squamous cell carcinoma[J]. Cancer Lett, 1999, 143(1):37-43.

[17] Correa P, Miller MJ. Carcinogenesis, apoptosis and cell proliferation[J]. Br Med Bull, 1998, 54(1):151-162.

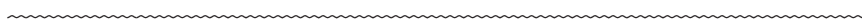
[18] Wenghoefer M, Pantelis A, Dommisch H, et al. Decreased gene expression of human beta-defensin-1 in the development of squamous cell carcinoma of the oral cavity[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2008, 37(7):660-663.

[19] Kesting MR, Loeffelbein DJ, Hasler RJ, et al. Expression profile of human beta-defensin 3 in oral squamous cell carcinoma[J]. Cancer Invest, 2009, 27(5):575-581.

[20] Zhao C, Wang I, Lehrer RI. Widespread expression of beta-defensin hBD-1 in human secretory glands and epithelial cells[J]. FEBS Lett, 1996, 396(2/3):319-322.

[21] Wenghoefer M, Pantelis A, Dommisch H, et al. Nuclear hBD-1 accumulation in malignant salivary gland tumours[J]. BMC Cancer, 2008, 8:290.

(本文编辑 李彩)



(上接第176页)

与临床康复, 2009, 13(46):9159-9162.

[17] Shu L, Guan SM, Fu SM, et al. Estrogen modulates cytokine expression in human periodontal ligament cells[J]. J Dent Res, 2008, 87(2):142-147.

[18] 梁莉, 周威, 余继锋, 等. 雌激素受体β对牙周膜成纤维细胞RANKL表达的影响[J]. 口腔医学研究, 2009, 25(6): 684-687.

[19] 靳趁心, 王永兰, 刘士有, 等. 雌激素替代疗法对骨质疏松实验性牙周炎大鼠牙槽骨吸收的影响[J]. 天津医科大学学报, 2006, 12(2):192-195.

[20] 李晓红, 司红羚, 刘啸晨. 雌激素对骨质疏松大鼠牙槽骨改建过程中IL-1表达的影响[J]. 实用口腔医学杂志, 2006, 22(5):684-687.

[21] 郭淑娟, 王耀生, 李晓菁, 等. 雌激素对去卵巢大鼠牙槽骨组织结构和MT1-MMP表达的影响[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2009, 19(3):132-135.

[22] Zhou Y, Fu Y, Li JP, et al. The role of estrogen in osteogenic cytokine expression in human periodontal ligament cells[J]. Int J Periodontics Restorative Dent, 2009, 29(5):507-513.

[23] Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling crosstalk between RANKL and IFN-γ[J]. Nature, 2000, 408(6812):600-605.

[24] 王珏, 梅予锋. 肿瘤坏死因子-α及其受体与炎症性骨破坏[J]. 国际口腔医学杂志, 2009, 36(5):574-576.

[25] 唐成芳, 郭三萍, 李晓红, 等. 生长激素雌激素对去势大鼠剩余牙槽骨内IGF-I表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2007, 13(6):393-397.

(本文编辑 李彩)