

science, 2003, 6(12):1270-1276.

- [23] Suzuki Y, Sato N, Tohyama M, et al. cDNA cloning of a novel membrane glycoprotein that is expressed specifically in glial cells in the mouse brain[J]. J Biol Chem, 1996, 271(37):22522-22527.
- [24] Gomi F, Imaizumi K, Yoneda T, et al. Molecular cloning of a novel membrane glycoprotein, pal, specifically expressed in photoreceptor cells of the retina and containing leucine-rich repeat[J]. J Neurosci, 2000, 20(9):3206-3213.
- [25] Kuja-Panula J, Kiihtomäki M, Yamashiro T, et al. AMIGO, a transmembrane protein implicated in axon tract development, defines a novel protein family with leucine-rich repeats[J]. J Cell Biol, 2003, 160(6):963-973.
- [26] Almeida A, Zhu XX, Vogt N, et al. GAC1, a new member of the leucine-rich repeat superfamily on chromosome band 1q32.1, is am-

plified and overexpressed in malignant gliomas[J]. Oncogene, 1998, 16(23):2997-3002.

- [27] Taguchi A, Wanaka A, Mori T, et al. Molecular cloning of novel leucine-rich repeat proteins and their expression in the developing mouse nervous system[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1996, 35(1-2):31-40.
- [28] Taniguchi H, Tohyama M, Takagi T. Cloning and expression of a novel gene for a protein with leucine-rich repeats in the developing mouse nervous system[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1996, 36(1):45-52.
- [29] Bormann P, Roth LWA, Andel D, et al. zNLR, a novel leucine-rich repeat protein is preferentially expressed during regeneration in zebrafish[J]. Mol Cell Neurosci, 1999, 13(3):167-179.

编辑 井晓梅

·综述· 文章编号 1000-2790(2006)17-1629-03

## 肝细胞生长因子及其受体 c-Met 在卵巢癌细胞侵袭转移中的作用

董彤<sup>1</sup>, 辛晓燕<sup>2</sup>, 马向东<sup>3</sup>

(第四军医大学西京医院妇产科, 陕西 西安 710033)

**【摘要】**肝细胞生长因子(HGF)是一种多肽生长因子,具有促进包括肝细胞、上皮细胞、内皮细胞、造血细胞等多种类型细胞的生长、迁移和形态发生的作用。它还参与多种细胞的增殖、迁移,对各类肿瘤的侵袭转移有着重要的诱导作用。本文通过对近年来国外有关文献的回顾,希望能够为进一步探讨HGF及其受体在卵巢癌治疗中的具体意义提供新的思路。

**【关键词】**肝细胞生长因子;受体;c-met;卵巢肿瘤

**【中图分类号】**R737.31 **【文献标识码】**B

### 1 HGF及其受体的结构

肝细胞生长因子(HGF)<sup>[1]</sup>最早是1984年由日本的中村敏一教授从大鼠血浆中得到的,其结构实质是含728个氨基酸的肝素结合糖蛋白。它来自间质细胞,以旁分泌方式作用于邻近细胞,并与细胞表面的受体结合并激活酪氨酸激酶活性,具有较强的促有丝分裂、组织成形、诱导上皮细胞迁移、侵袭以及诱导血管生成等作用<sup>[2]</sup>。HGF的受体是原癌基因c-met编码的一种跨膜蛋白,称为Met,是由 $M_r$ 为190000的前体蛋白分裂而得来,由 $M_r$ 为50000的 $\alpha$ 链和 $M_r$ 为145000的 $\beta$ 链经二硫键相连而成的杂二聚体。Prat等发现某些癌细胞的 $M_r$ 为190000 Met的前体,缺乏裂解过程,不需连接配体就已有活性,因此就失去了HGF的生长控制。各种瘤细胞和c-met转化后的细胞都过度表达Met,对HGF的反应比正常细

胞更敏感强烈。

### 2 HGF及其受体的生物学作用

(1)启动肝再生实验证明,在众多细胞因子中,HGF是肝再生的启动信号,并在肝细胞增殖过程中起重要作用。(2)促进细胞分裂作用 HGF在原始肝细胞的无血清培养中可刺激肝细胞DNA合成,1 g/L HGF即可观察到生物活性,最大活性浓度5~10 g/L。另有报道HGF对其他许多细胞也有刺激作用,例如能够刺激肾小管细胞、角化细胞、黑色素瘤等细胞的DNA合成。(3)细胞运动作用 HGF具有类似散射因子的功能,在一些上皮细胞和内皮细胞培养体系中加入不同浓度,均可促进细胞扩散和迁移,HGF具有促进包括肝细胞、上皮细胞、内皮细胞、造血细胞等多种类型细胞的生长、迁移和形态发生的作用,还参与多种细胞的增殖、迁移和形态发生。(4)肿瘤坏死作用 高浓度的HGF对某些癌及肉瘤细胞系有抑制作用和肿瘤坏死作用,该作用机制尚不完全清楚。(5)c-met原癌基因的RNA表达存在于人类的某些上皮组织:如肝脏、肾脏、胎盘、消化道上皮等<sup>[3]</sup>。共聚焦激光扫描显微镜下证实,c-met基因蛋白表达位于腺样结构细胞的边缘,c-met编码的蛋白属于酪氨酸激酶生长因子的受体家族,在体外细胞恶性转化的过程中可以出现基因扩增、重排和过度表达。对于依赖外生的受体调节生长刺激的,进入细胞周期和分裂进程的正常细胞来说,这就意味着存在着一个调节细胞增生的平衡机制<sup>[4]</sup>。相比较而言,肿瘤细胞通过产生生长因子与受体获得一定水平的自主生长信号(自主分泌)。近年来,已有相关研究表明,与癌形成和发展有关的不同细胞类型之间出现异型信号(非自主分泌),但目前的体内实验方法不足以说明这种复杂的关系<sup>[4]</sup>。在研究与c-Met蛋白的相关信号通过非分泌机制促进转移中报告,利用转基因鼠移植模型将过度表达HGF及受体c-met的肿瘤细胞移植后,直接评估异型信号对转移部位的作用<sup>[5]</sup>。在体内,非自主分泌信号与自主分泌进行的是条件不均衡的竞争。恶性肿瘤细胞的非内部生长因子对体内转移产生重大影响,提供了异型信号对肿瘤进展发挥作用的实验依据。

收稿日期 2006-03-10; 接受日期 2006-05-11

作者简介:董彤,硕士生(导师辛晓燕),Tel:13630227738 Email:

tongtong@fmmu.edu.cn

### 3 HGF 及其受体对癌细胞侵袭的影响机制

肿瘤的浸润和转移是一个非常复杂的病理过程,也是患者死亡的主要原因。大量的临床和实验研究表明,HGF 和 c-Met 在肿瘤的发生发展中具有重要作用。正常细胞有能力通过减少 c-met 的表达控制其对 HGF 的反应,而在大部分肿瘤细胞中 c-met 为过表达的状态,并呈现高水平的自体磷酸化。一般来说,c-met 的过表达是由于基因的扩增所致。在结、直肠癌、肝癌和脑胶质瘤中,c-met 的表达与肿瘤的发生发展有着密切联系。Ivan 和 Webb 等用激活的 ras 和 ret 基因共同转染肿瘤细胞,可导致 c-met 的过度表达,从而促进 HGF 所依赖的肿瘤细胞的侵袭作用。有研究发现,在 HGF 的诱导下, c-Met cDNA 可使一些一开始对受体转染呈阴性的细胞出现活动能力并更容易向基底膜侵袭。c-met 基因转染能增加癌细胞的肿瘤基因性,使 c-Met 高表达的恶性细胞对 HGF 更加敏感和更具侵袭性,从而促进肿瘤的发生发展。

### 4 HGF 及其受体对卵巢癌细胞发生侵袭的影响

(1) 女性生殖系统的恶性肿瘤中存在着 HGF 及其受体 c-Met 的过表达,并且其过表达与肿瘤的发生、发展及预后密切相关。文献研究证实,HGF 与其受体表达水平的高低与肿瘤组织的分期分级直接相关,良性肿瘤的表达式介于正常组织与恶性肿瘤组织之间,恶性肿瘤分期越晚,HGF 的表达水平越高,也间接印证了 HGF/c-Met 信号转导通路在肿瘤侵袭转移过程中起重要作用的学说。Corps 等人认为,HGF 通过刺激表达高水平 c-met 的卵巢癌细胞株 SKOV3、8910 等的能动性、趋化性及促有丝分裂作用而促进肿瘤的演进和播散。Sowter 等研究证实,卵巢良恶性肿瘤的囊液及腹水中均含有 HGF,且 HGF 是卵巢癌细胞迁移的一个重要诱导因子,其表达水平还与术后 5 年生存率有一定影响。Baykal 等也在 2003 年报道,用 ELISA 方法分别检测 HGF 在卵巢上皮肿瘤囊内液和卵巢良性肿瘤的囊内液,发现恶性肿瘤表达的 HGF 水平远远高于良性的卵巢囊肿( $P < 0.001$ ),证明 HGF 在卵巢上皮细胞的癌变、分化过程中通过旁分泌途径扮演重要角色,机制可能是在肿瘤发生发展过程中,HGF 的分泌物能够刺激临近细胞增强对它的反应<sup>[5]</sup>。(2) 越来越多的研究证实肿瘤的生长和转移有赖于血管生成,在新血管形成以后肿瘤会呈指数倍增长,转移的机会随之增高<sup>[6]</sup>。微血管密度(MVD)即为用免疫组化法检测新生血管内皮细胞数目,是血管生成评估的“金标准”。在卵巢肿瘤组织中,MVD 值与临床病理特征之间有着密切的联系,与卵巢癌患者年龄、组织分化程度、临床分期及 5 年生存率也均有一定相关性<sup>[6]</sup>。有文献研究表明<sup>[7]</sup>,恶性卵巢肿瘤的 MVD 值明显高于良性,病理分级 I 级卵巢癌微血管密度明显低于 II 级或 III 级,且肿瘤的转移过程也与肿瘤血管生成有关,肿瘤内血管生成增多,可增加癌细胞向远处转移的机会。一方面是因为新生毛细血管基底膜不完整,肿瘤细胞更容易通过;另一方面,新生血管生成过程中,内皮细胞会产生多种降解酶,促进肿瘤细胞的脱落和转移。我们还发现,微血管密度高的卵巢癌患者术后的生存期明显缩短,提示进行血管生成分析可能是判断卵巢癌患者预后情况的一项有

用指标。

### 5 拮抗剂

近年来,各国学者已经陆续发现不少种能对 HGF 及其受体 c-Met 蛋白起拮抗作用的化合物。以下只列举两种(1) Date 等(1997)通过对重组的人 HGF 进行裂解发现了一种新的 HGF 拮抗剂,它由 HGF $\alpha$  链 N 末端的 447 个氨基酸和 4 个 Kfingle 区域所组成,故命名为 NK4,分子量 50 000,4 个 Kfingle 区域的氨基酸序列与血管抑素具有 47% 的同源性。NK4 与 c-Met 结合,可以竞争性地完全抑制 HGF 和 c-Met 的相互作用,影响 HGF/c-Met 系统的信号转导,从而抑制 HGF 所诱导细胞的增殖、运动和形态生成,但其本身不能诱导 c-Met 的酪氨酸磷酸化。体外研究表明,NK4 可抑制 HGF 诱导的包括人的胆囊癌、结肠癌、宫颈癌、乳腺癌、胰腺癌等细胞的运动和侵袭。Jiang 等进行的体外研究结果显示,NK4 可抑制 HGF 诱导人脐静脉内皮细胞的运动和小管结构的形成。Kuba 等<sup>[8]</sup>的研究进一步证实,NK4 在体外可抑制由碱性成纤维细胞生长因子、血管内皮细胞生长因子和 HGF 所诱导人微血管内皮细胞的增殖和迁移,从而认为 NK4 可通过抑制肿瘤血管的生成来控制肿瘤的进展。Kuba 等<sup>[8]</sup>还在 2001 年报道,在小鼠的卵巢癌模型中,NK4 的表达可以使癌细胞移行速度减慢,从而降低它侵袭的可能性,抑制癌细胞向腹膜的传播扩散,从而小鼠的寿命延长。(2) 国外 Song 等<sup>[9]</sup>所做的研究也报道,存在着某些共同结构的两种化合物 PHA-665752 和 SU-11274 可能是 c-Met 蛋白的高特异性抑制剂,能够抑制 c-Met 下游激酶 AKT、FKHR 等的磷酸化,诱导细胞分裂周期停滞,最终使细胞死亡。

### 6 研究前景

HGF 是一种多功能细胞因子,天然分泌的 HGF 量极少,难以获得,且 HGF 是大分子糖基化蛋白,在原核细胞中难以表达。尽管它的结构、基因序列等已明确,但其发挥作用的具体机制尚不完全清楚。对 HGF 的作用机制在分子水平上须进一步阐述,如何更好的发挥其在抗肿瘤机制中的作用仍存有争议,是当前研究的一个热点。

近年来,国内外对肝细胞生长因子及其受体在恶性肿瘤中的影响已有相关研究,但对其信号转导通路抑制剂,以及明确针对卵巢癌细胞侵袭作用的研究比较少,具体作用机制尚不明确。测定 HGF 和 c-Met 蛋白与卵巢肿瘤及 MVD 值的关系,探讨 MVD 值、c-Met 蛋白作为判断卵巢恶性肿瘤发生、发展及评估预后指标的可能,研究 HGF/c-Met 信号转导通路对卵巢肿瘤的发生、发展可能存在的影 响。等均为有待进一步解决的问题。希望本文能够起到抛砖引玉的作用,为判断患者的预后及发展引进新的指标,也为卵巢恶性肿瘤的药物治疗提供新的靶点和新的思路。

### 【参考文献】

- [1] Jiang WG, Martin TA, Parr C, et al. Hepatocyte growth factor, its receptor, and their potential value in cancer therapies[J]. Hematology, 2005, 53: 35-61.

- [2] 小池弘美. 肝细胞生长因子[J]. 日本医学介绍, 2002, 23(5): 226-227.
- [3] 董薇, 蔡美英. 肝细胞生长因子及其临床应用研究进展[J]. 微生物免疫学进展, 2001, 29(3): 87-90.
- [4] 李宏武, 单吉贤. HGF/SF、c-met 基因信号异常与胃肠道恶性肿瘤[J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(11): 1749-1751.
- [5] Baykal C, Demirtas E, Al A, et al. Comparison of HGF (hepatocyte growth factor) levels of epithelial ovarian cancer cyst fluids with benign ovarian cysts[J]. Int J Gynecol Cancer, 2003, 13(6): 771-775.
- [6] 曲丹妮, 郑建华. c-Met 蛋白与 MVD 在卵巢肿瘤组织中表达的意义[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2002, 2: 133-134.

- [7] 王志英. 卵巢癌与肿瘤转移[J]. 中华现代妇产科学杂志, 2005, 6: 508-510.
- [8] Kuba K, Matsumoto K, Date K, et al. HGF/NK4, a four-Kringle antagonist of hepatocyte growth factor is an angiogenesis inhibitor that suppresses tumor growth and metastasis in mice[J]. Cancer Res, 2000, 60: 6737-6743.
- [9] Song LX, Turkson J, Karras JG, et al. Activation of Stat3 by receptor tyrosine kinases and cytokines regulates survival in human non-small cell carcinoma cells[J]. Oncogene, 2003, 22: 4150-4165.

编辑 许福明

· 研究简报 · 文章编号 1000-2796(2006)17-1631-02

## 快速测定血液脑钠素水平在急性呼吸困难患者鉴别诊断中的价值

熊俊杰 (内乡县人民医院心脏内科, 河南 内乡 474350)

【关键词】脑钠素; 呼吸困难; 心力衰竭; 充血性

【中图分类号】R541.6 【文献标识码】A

0 引言 临床上常规采用超声心动图、胸部 X 线、放射性血管造影检查等手段鉴别充血性心力衰竭(CHF)与肺源性疾病所致的急性呼吸困难,但在急诊环境中,上述检查手段无法达到方便、及时的要求。血液脑钠素(brain natriuretic peptide, BNP)是一种心脏神经激素,当心室壁张力增大时,从心室分泌释放,其浓度变化与心室受损程度、神经激素调节的状况及呼吸困难程度相关<sup>[1]</sup>。我们检测急性呼吸困难患者血中 BNP 浓度,探讨其快速检测在鉴别 CHF 与肺源性疾病所致的急性呼吸困难中的价值。

### 1 对象和方法

1.1 对象 2004-07/2005-07 来本院急诊科就诊的急性呼吸困难患者 136 例中,10 位患者因明显的胸壁创伤或肺损伤、急性心肌梗死、尿毒症、过敏反应等明确原因引起的急性呼吸困难而未入选,故本研究共包括 126 例急性呼吸困难患者,男 75 例,女 51 例,平均年龄(56.8 ± 13.5)岁。其中有高血压病史者 26 例,充血性心力衰竭病史者 19 例,陈旧性心肌梗死病史者 8 例,慢性阻塞性肺病病史者 9 例。

1.2 方法 急性呼吸困难患者来院后,立即采血 2mL,置入含 EDTA 抗凝剂的真空试管中,混匀抗凝,使用美国 Biosite Diagnostics 公司生产的 Triage Meter 型免疫荧光定量 BNP 快速检测仪及配套试剂卡,测定血液 BNP 水平。检测范围 5 ~ 5000 ng/L。在患者就诊后的 1 wk 内,由两位不知研究内容的心内科医生对入选患者的临床资料、心电图、胸部 X 线、超声

心动图、肺功能检查、其他临床检查结果及药物治疗效果进行分析,经协商共同作出急性呼吸困难是由充血性心力衰竭(CHF)或肺源性疾病引起的诊断。诊断依据:①CHF:根据 Framingham 标准和心脏超声等影像学及其他实验室检查的结果,以及病程中对治疗的反应等作出诊断。心功能分级按照美国心脏病协会 NYHA 分级方法。肺源性心脏病右心功能不全引起的呼吸困难归于心力衰竭,心功能按 NYHA 分级。②肺源性疾病:胸片、肺部 CT 等检查或肺功能检测发现异常,对激素和抗生素治疗有效,无心脏扩大或肺淤血,心脏超声检查心室功能正常。包括慢性支气管炎、肺气肿、支气管哮喘、肺炎、肺部肿瘤、肺结核等。

统计学处理 采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计分析。两组患者血液 BNP 测定结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异比较采用 *t* 检验。按照 BNP 阳性诊断界限: > 100 ng/L 计算敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值。

### 2 结果

2.1 两组间血液 BNP 水平的比较 心内科医师共诊断 CHF 患者 61(男 37,女 24)例,平均年龄(65.8 ± 16.2)岁,诊断为肺源性疾病患者 65(男 38,女 27)例,平均年龄(66.1 ± 15.6)岁。两组间年龄、男女比例无显著性差异( $P > 0.01$ )。CHF 组血液 BNP 水平为(608 ± 341)ng/L,肺源性疾病组血液 BNP 水平为(40 ± 31)ng/L,两组间 BNP 水平有显著性差异( $P < 0.01$ )。

2.2 血液 BNP 水平测定对 CHF 诊断的准确性 以 BNP > 100 ng/L 为阳性诊断界限,61 例经临床诊断的 CHF 患者中共有 57 例患者 BNP 测定为阳性,4 例患者为阴性,65 例经临床诊断的肺源性疾病患者中共有 52 例患者 BNP 测定为阴性,13 例患者为阳性。经计算 BNP > 100 ng/L 诊断 CHF 的敏感性为 93%,特异性为 80%;阳性预测值为 81%,阴性预测值为 93%。

3 讨论 脑钠素(brain natriuretic peptide, BNP)是日本学者首先从猪脑中分离的一种含有 32 个氨基酸的多肽<sup>[2]</sup>,它的合成和分泌主要在心室,刺激其分泌的主要条件是心室负荷和室壁张力增加<sup>[3]</sup>。CHF 时心室容量剧增,压力增高,心室舒张末期压增高,射血分数下降,造成肺淤血和心功能不全状态,从而引起呼吸困难并引起 BNP 分泌量增加。CHF 的临床症状

收稿日期 2006-06-14; 接受日期 2006-07-10

作者简介:熊俊杰, 学士, 副主任医师。Tel (0377)6532811 Email:

xjj158784@sina.com