

HGF/SF、c-met 基因信号异常与胃肠道恶性肿瘤

李宏武, 单吉贤

李宏武, 单吉贤, 中国医科大学第一临床学院肿瘤科 辽宁省沈阳市 110001
项目负责人: 李宏武, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街 155 号, 中国
医科大学第一临床学院肿瘤科. lh-w-005@163.com
电话: 024-23256666-6227
收稿日期: 2003-03-06 接受日期: 2003-03-25

摘要

癌基因的变异及其参与的信号传导与肿瘤的关系成为当今生命科学研究领域的热点领域. 在细胞信号传导网络中最重要传导通路之一是酪氨酸激酶受体通路, 肝细胞生长因子/离散因子(HGF/SF)和他的受体c-met: 具有酪氨酸激酶活性, 刺激上皮细胞增生、迁移、形态发生, 与恶性肿瘤的发生、浸润、转移相关. 我们就目前的相关研究论述 HGF/SF、c-met和他们与胃肠道恶性肿瘤的关系进展.

李宏武, 单吉贤. HGF/SF、c-met 基因信号异常与胃肠道恶性肿瘤. 世界
华人消化杂志 2003;11(11):1749-1751
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1749.asp>

0 引言

消化道恶性肿瘤是我国常见恶性肿瘤之一, 尤其胃肠道癌多见, 其中大肠癌是西方国家癌死亡的第二位原因, 是肝转移发生频繁的恶性肿瘤, 常导致患者预后差, 严重危害患者的生命健康. 随着肿瘤基因研究的进展和肿瘤分子生物学以及相关学科的发展, 从基因水平评估胃肠道恶性肿瘤发生、浸润、转移的相关机制, 进而获得肿瘤的早期诊断、预后评价和基因治疗决策成为可能.

癌基因的变异及其参与的信号传导与肿瘤的关系成为当今生命科学研究领域的热点和前提. 在细胞信号传导网络中最重要传导通路之一是酪氨酸激酶受体通路^[1]. 几乎所有的生长因子刺激细胞增生的信号以及大部分细胞因子信号、抗原结合淋巴细胞表面受体诱发的细胞各种反应, 都离不开此通路. 生长因子受体本身具有酪氨酸激酶活性, 当生长因子与受体结合后, 促使受体形成二聚体(同源的或异源的); 受体构型产生变化, 激活膜内区的酪氨酸激酶, 使受体自身磷酸化, 同时使底物的酪氨酸磷酸化, 这样信号就通过受体进入到细胞内, 再进一步传导给效应子、传递子和联接子发挥作用. 研究发现大多数酪氨酸激酶是癌基因的蛋白产物^[2]. c-met 是原癌基因, 也是肝细胞生长因子/离散因子(HGF/SF)的受体, 具有酪氨酸激酶活性, HGF/SF 与其受体特异结合, 刺激上皮细胞的增生、迁移和形态发生; 原癌基因 c-met 在消化道恶性肿瘤中基因变异

多表现为过度表达, 在胃癌^[3]、大肠癌^[4]、肝外胆道癌^[5]和胰腺癌^[6]中已有报告. 另外, 特异性器官转移是几种人类癌症的特点, 其中包括大肠癌: 一种肝转移频率相当高的恶性肿瘤. 研究表明 HGF/SF 和 c-met 在胃肠道恶性肿瘤的发生、转移中发挥作用.

1 癌基因 c-met

c-met 基因位于染色体 7q31 区, 编码 190 kDa 的跨膜糖蛋白. 其 50 kDa 的 α 链位于细胞外, 100 kDa 的 β 链具有胞外配体结合区、跨膜区和胞内酪氨酸激酶区, 两链之间由二硫键相连. c-met 原癌基因 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、甲状腺等. 免疫组织化学分析表明 c-met 基因蛋白表达主要出现在肝细胞、胆管上皮、胃黏膜表面上皮腺颈部上皮的细胞膜. 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 基因编码的糖蛋白属于酪氨酸激酶生长因子受体家族, 在体外细胞恶性转化的过程中可以出现 c-met 基因扩增、重排和过度表达^[7]. 对于进入细胞周期和分裂进程的正常细胞依赖外生的受体调节生长刺激, 这说明存在一个调节细胞增生的平衡机制, 相比而言, 肿瘤细胞通过产生生长因子及其受体(自主分泌信号)获得一定水平的自主生长信号. 近来, 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), 但目前体内实验方法不足以说明这种复杂关系, Yu et al^[8]在研究与 c-met 蛋白相关信号通过非自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/SF 和他的拮抗因子 NK2 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. 在体内, 非自主分泌信号与自主分泌条件不均衡竞争; 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.

1.1 HGF/SF 研究发现^[4]与细胞迁移、生长、形态发生相关的许多进化过程依靠细胞外信号, 而 HGF/SF 正是这种信号分子, 因为他的特殊结构、活化机制和对胚胎发生的重要作用而引起人们的极大兴趣. HGF/SF, 肝细胞生长因子/离散因子, 是多功能的生长因子, 可以诱导多种上皮细胞, 是上皮细胞形态发生的间叶细胞效应因子^[9]. 在体外实验中, HGF/SF 可诱导扩散、浸润、增生和形态发生; 在体内研究中 HGF/SF 负责成人胚胎发生和参与多种活性调节. 这些活性与他在肿瘤形成和转移中的作用有关^[10]. 人类的 HGF/SF 是由 728 个氨

氨基酸残基前体合成的单股多肽链,是最大的二硫化物连接细胞因子,包括一个60 kDa重链和35 kDa的轻链.与血纤维蛋白溶酶原性质相似,通过蛋白水解作用释放一个由31个氨基酸组成的N-末端信号肽并且可以分泌产生活化的异二聚化合物而发挥作用.动物实验表明^[11] HGF/SF可以刺激鼠肝实质细胞增生,浓度低于10 pm时刺激多种上皮细胞:内皮细胞、间叶细胞的生长;HGF还可以抑制多种肿瘤细胞增生并诱导他们凋亡,具有始动基因、前基因、抗凋亡、血管形成和免疫调节活性.针对HGF/SF在肿瘤中的活化机制Kataoka et al^[12]报道:肝细胞生长因子/离散因子在细胞外环境的激活是met受体酪氨酸激酶调节的HGF/SF诱导信号途径中的关键步骤,对肿瘤进展和生物学有重要作用.HGF/SF活化受HGF活化因子(HGFA)和重组的HGFA抑制因子-1(HAI-1)调节,在培养的大肠癌细胞株中存在HGFA mRNA和HAI-1蛋白分泌,二者表达相反.结论:HGFA在大肠黏膜和肿瘤中表达与HGF/SF的活化相关,HGFA和HAI-1平衡在大肠癌中的HGF/SF激活调节中起重要作用.

1.2 HGF/SF-c-met 间质起源的细胞(成纤维细胞、平滑肌细胞)产生的肝细胞因子或离散因子作为c-met受体的配体,形成HGF/SF-c-met内分泌信号系统.有旁分泌和内分泌两种形式,配体的结合可以使c-met受体的酪氨酸激酶磷酸化,促使细胞有丝分裂、细胞变形和向腺上皮的形态分化.因此,HGF/SF-c-met在胚胎发育、上皮生长和分化、组织损伤修复过程中表达增高,发挥调控作用^[1].有研究表明^[13] c-met和他的配体HGF/SF与黏附分子CD44的变异体是肿瘤转移相关蛋白.原癌基因c-met蛋白产物met是HGF/SF酪氨酸激酶受体,有研究论述HGF/SF-c-met信号系统对哺乳动物细胞发挥多种功能效应^[14],包括刺激或抑制细胞的增生、促进细胞运动、向细胞外基质扩散侵袭,诱导上皮细胞的腺、管状形态发生.具体实验数据证明HGF/SF-c-met信号系统的致癌作用受自分泌和旁分泌机制调控,促进肿瘤细胞生长、侵袭和血管形成.

1.3 HGF/SF和c-met在胃、肠癌中的表达 Kermorgant et al^[15]研究发现HGF/SF和c-met存在于人类消化道组织中,并且与在消化道癌转移中的意义相协调.癌基因c-met的异常多表现为过度表达,与恶性肿瘤的发生、发展、转移密切相关.Hiscox et al^[16]报道不同分期的大肠癌组织中HGF/SF和c-met表达情况,所有肿瘤均显示c-met mRNA过度表达,75% c-met蛋白表达上调.在任何组织类型中未检测出HGF/SF mRNA和蛋白表达.HGF/SF被认为是肿瘤细胞活动和侵袭的潜在刺激因子,而运动和侵袭是癌转移发生的重要特点.大肠癌组织中c-met过度表达,可能增加了肿瘤组织对HGF/SF的敏感性,使肿瘤细胞转移潜能增加.Fazekas et al^[17]在人类大肠癌转移灶中检测HGF受体,c-met,功能的实验与临床研究中报告:采用人类大肠癌细胞株以及

SCID鼠为实验动物,分析c-met的表达及HGF的生物学作用,结果证明c-met在人类大肠癌中的表达可作为肝转移潜能的标志物,因为c-met与转移信号的发生密切相关.Umeki et al^[18]研究大肠癌中癌基因c-met改变的临床意义中指出:采用Southern blot分析和RT-PCR方法,对43例大肠癌标本进行c-met基因扩增与过度表达的研究,12%标本c-met基因扩增,30%基因过度表达,并且c-met基因过度表达的病例肿瘤较大($P < 0.05$).研究提示c-met基因过度表达在大肠癌生长过程中起重要作用.Jiang et al^[19]曾报道结肠癌细胞的扩散和生长受HGF调节,HGF在四个结肠癌细胞株HT115、HT29、HT55、HRT18中对细胞移动和生长起作用,这对于控制结肠癌扩散非常重要.Park et al^[20]在研究胃癌中met基因激酶区突变缺失以及HGF/SF和c-met频繁蛋白表达时报告:肝细胞生长因子/离散因子和他的受体met在肿瘤细胞迁移、侵袭、转移中起重大作用,分析43例胃癌中HGF/SF和c-met表达以及met基因激酶区突变表明:HGF/SF和c-met分别表达67%和51%,所有HGF阳性表达者也表达c-met;c-met基因单股构型多肽性无变异,这提示c-met基因激酶区无基因改变.实验结果表明是调节HGF/SF自分泌和/或旁分泌的刺激和过度表达而不是HGF受体结构改变对胃癌的发生发展起作用;并且met和HGF/SF的表达可能赋予了肿瘤细胞生长优势.

1.4 HGF/SF和c-met在胃、肠癌肝转移中的表达 胃癌肝转移是患者预后差的重要因素.Amemiya et al^[3]报告:采用半定量RT-PCR及免疫组织化学方法对IV期胃癌及其肝转移灶进行HGF/SF和c-met表达的分析,结果提示c-met在癌组织中明显过度表达,可能与胃癌肝转移机制有关,评估c-met表达可能是胃癌肝转移有价值的标志物.对于c-met在大肠癌肝转移中的研究报告:c-met在大肠癌原发灶和肝转移灶中均过度表达,提示c-met在大肠癌肝转移的发展中起作用.Di Renzo et al在研究大肠癌侵袭发展中的c-met基因扩增和过度表达中指出:癌基因c-met是肝细胞生长因子编码受体,具有促进上皮细胞有丝分裂、促进细胞转移、侵袭的潜力.50%原发灶和70%肝转移灶中c-met过度表达,基因扩增和过度表达相关者见于10%的原发灶和8/9转移灶中.说明癌基因c-met过度表达发生在大肠癌的各个阶段,促进大肠癌恶性转化;基因扩增加强了肿瘤细胞转移潜能的选择优势.Herynk et al认为肿瘤的转移是高选择性、非随机的过程,导致细胞种群的同源细胞选择离开原发灶,在血循环中侵袭、生存、捕获,然后从血管渗出,在特定的转移器官生存和增生.肿瘤细胞与(转移部位)微环境的相互作用严重影响细胞在局部的生存和增生.表皮生长因子(EGFR)和HGF受体c-met是两个与大肠癌进展和转移相关的受体酪氨酸激酶(RTKs),RTKs活性可刺激大量直接影响肿瘤细胞迁移、生存、增生的特异途径.RTKs的异常调节经常发生在进展期大肠

癌及其肝转移灶中, 这明显影响肿瘤细胞的转移表现型。1.5 HGF/SF 和 c-met 参与的其他肿瘤调控机制 信号传导主要通路除了酪氨酸激酶受体通路外, 还有 G 蛋白连接受体通路、TGF- β 通路、Wnt 通路、Integrin 通路等等, HGF/SF 和 c-met 与其他通路是否有关? Boon et al 研究了大肠癌中 Wnt 信号调节酪氨酸激酶受体 met 表达情况, met 的过度表达是大肠腺瘤发展至腺癌过程的早期事件, 与调控增生性结肠息肉的 β -catenin/TCF(T 细胞受体)介导的转移活性丧失有关, 这对癌形成非常重要。家族性肠息肉病例的尸检中发现 met 在大肠癌前病变-异常发育腺窝中过度表达; 大肠癌细胞株中 TCF 蛋白阴性区的诱导和 β -catenin/TCF 调节活性丧失引起 met 表达强烈下调, 这提示 met 表达受 Wnt 途径控制, 并且 met 表达在控制肠上皮转变和分化中起作用。Kitamura et al 在大肠癌中 met/HGF 受体调节 bcl-w 表达和抑制凋亡中研究了 met 与凋亡抑制基因 bcl-2 家族成员的关系, 结果表明大肠癌中 met 表达通过 bcl-w 的表达调节肿瘤细胞凋亡。肿瘤发生转移主要依靠肿瘤细胞的侵袭能力, 细胞移动是这一过程的主要步骤, Kermorgant et al 研究了 HGF 在体外诱导低侵袭性结肠癌细胞株 Coca-2 侵袭性中的作用, HGF 诱导侵袭性过程有蛋白激酶 C(PKC)和 PI3 激酶参与, 并且与刺激细胞移动和伴随的蛋白酶过多-允许细胞通过降解细胞外基质而移动这两个分子事件密切相关。

1.6 结论 肝细胞生长因子/离散因子是表达酪氨酸激酶 met 受体细胞的多效作用因子, HGF/SF-c-met 信号途径即在许多正常细胞生物过程中起作用, 如: 刺激生长、细胞增生等; 也在肿瘤细胞发生、扩散转移中发挥作用, 如: 恶性肿瘤的形态发生、转移等。在恶性肿瘤中 c-met 基因多表现为过度表达和扩增, 少有突变的发生; 在细胞癌变的信号传导和某些肿瘤的发生、发展过程中起重要作用, c-met 可能成为细胞癌变信号传导的靶目标。

总之, 以前的研究工作已确定在肿瘤中可检出许多种肿瘤相关基因的变异, 这些基因变异中癌基因变异以点突变、扩增、和过度表达为主; 已证明大肠癌的发生发展是一个多步骤、多阶段及多基因参与的疾病; 而对于肠型胃癌发生发展不同阶段与肿瘤相关基因的变异方式的研究表明基因过量表达是细胞癌变的起始阶段, 可逆性较大; 基因扩增、重排多发生在癌变的促进阶段, 表现出异质性, 脱离机体控制, 导致增生分化失控的不可逆性, 促使肿瘤发展、转移。目前不能明确阐述哪些基因在什么时空条件下发生了变异? 这些变异与肿瘤的发生、发展有多大的关系尚无定论; HGF/SF 和 c-met 癌基因变异与胃肠道恶性肿瘤的易感性、与不同个体肿瘤的生物特性; 胃肠道恶性肿瘤肝转移的基因类型和定位作用、HGF/SF 和 c-met 在胃肠恶性肿瘤中过度表达的原因及其表达差异等问题有待深入研究。针对癌基因变异规律设计合理的肿瘤治疗方

法, 经临床实验研究确定新的靶基因和有效的治疗手段是肿瘤治疗中很有前途的方法; 另外, HGF/SF 和 c-met 癌基因与不同的信号传导途径调控肿瘤的关系、细胞行为的研究成果对分析基因与人类疾病、探讨药物作用机制及途径有重要实用意义; HGF/SF 和 c-met 及其参与的信号途径对恶性肿瘤的调控研究为深入解释人类生命现象、更有效的攻克癌症, 改善人类健康具有不可估量的作用。

2 参考文献

- 1 曾益新. 肿瘤学. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1999:89-94
- 2 张天泽, 徐光炜. 肿瘤学. 第 1 版. 天津: 天津科学技术出版社, 1996:305
- 3 Amemiya H, Kono K, Itakura J, Tang RF, Takahashi A, An FQ, Kamei S, Iizuka H, Fujii H, Matsumoto Y. *c-Met* expression in gastric cancer with liver metastasis. *Oncology* 2002;63:286-296
- 4 Otte JM, Schmitz F, Kiehne K, Stechele HU, Banasiewicz T, Krokowicz P, Nakamura T, Folsch UR, Herzig K. Functional expression of HGF and its receptor in human colorectal cancer. *Digestion* 2000;61:237-246
- 5 Hida Y, Morita T, Fujita M, Miyasaka Y, Horita S, Fujioka Y, Nagashima K, Katoh H. Clinical significance of hepatocyte growth factor and *c-met* expression in extrahepatic biliary tract cancer. *Oncol Rep* 1999;6:1051-1056
- 6 La Rosa S, Uccella S, Capella C, Erba S, Sessa F. Localization of hepatocyte growth factor and its receptor met in endocrine cells and related tumors of the Gut and Pancreas: An immunohistochemical study. *Endocr Pathol* 2000;11:315-329
- 7 Ponzetto C, Giordano S, Peverali F, Della Valle G, Abate ML, Vaula G, Comoglio PM. C-met is amplified but not mutated in a cell line with an activated met tyrosine kinase. *Oncogene* 1991;6:553-559
- 8 Yu Y, Merlino G. Constitutive *c-met* signaling through a nonautocrine mechanism promotes metastasis in a transgenic transplantation model. *Cancer Res* 2002;62:2951-2956
- 9 Brinkmann V, Foroutan H, Sachs M, Weidner KM, Birchmeier W. Hepatocyte growth factor/scatter factor induces a variety of tissue-specific morphogenic programs in epithelial cells. *J Cell Biol* 1995;131(6 Pt1):1573-1586
- 10 Zhang YW, Vande Woude GF. HGF/SF-met signaling in the control of branching morphogenesis and invasion. *J Cell Biochem* 2003;88:408-417
- 11 Gohda E. Function and regulation of production of hepatocyte growth factor (HGF). *Nippon Yakurigaku Zasshi* 2002;119:287-294
- 12 Kataoka H, Hamasuna K, Itoh H, Kitamura N, Koono M. Activation of hepatocyte growth factor/scatter factor in colorectal carcinoma. *Cancer Res* 2000;60:6148-6159
- 13 Orian-Rousseau V, Chen L, Sleeman JP, Herrlich P, Ponta H. CD44 is required for two consecutive steps in HGF/*c-met* signaling. *Genes Dev* 2002;16:3074-3086
- 14 To CT, Tsao MS. The role of hepatocyte growth factor/scatter factor and *met* receptor in human cancers (Review). *Oncol Rep* 1998;5: 1013-1024
- 15 Kermorgant S, Cadiot G, Lewin MJ, Lehy T. Expression of hepatocyte growth factor and its receptor, *c-met* in human digestive tissue and different gastric and colonic cancer cell lines. *Gastroenterol Clin Biol* 1996;20:438-445
- 16 Hiscox SE, Hallett MB, Puntis MC, Nakamura T, Jiang WG. Expression of the HGF/SF receptor, *c-met*, and its ligand in human colorectal cancers. *Cancer Invest* 1997;15:513-521
- 17 Fazekas K, Csuka O, Kovacs I, Raso E, Timar J. Experimental and clinicopathologic studies on the function of the HGF receptor in human colon cancer metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2000;18:639-649
- 18 Umeki K, Shiota G, Kawasaki H. Clinical significance of *c-met* oncogene alterations in human colorectal cancer. *Oncology* 1999;56:314-321
- 19 Jiang WG, Lloyds D, Puntis MC, Nakamura T, Hallett MB. Regulation of spreading and growth of colon cancer cells by hepatocyte growth factor. *Clin Exp Metastasis* 1993;11:235-242
- 20 Park WS, Oh RR, Kim YS, Park JY, Shin MS, Lee HK, Lee SH, Yoo NJ, Lee JY. Absence of mutations in the kinase domain of the *Met* gene and frequent expression of *Met* and HGF/SF protein in primary gastric carcinomas. *APMIS* 2000; 108:195-200