

血小板衍生生长因子及其受体与肿瘤细胞的辐射抗性

杨学琴 刘芬菊

【摘要】 在多种恶性肿瘤中,存在血小板衍生生长因子(PDGF)及其受体(PDGFR)自分泌生长刺激的异常合成。PDGF是有效的有丝分裂原和化学驱动剂,PDGFR属于酪氨酸激酶受体,当PDGFR与PDGF结合后,活化一系列下游信号通路,并产生众多的生物学效应。研究表明,PDGF和PDGFR的信号通路与肿瘤细胞辐射抗性密切相关,其机制可能与促进细胞增殖、抑制凋亡、调控细胞周期阻滞有关。

【关键词】 血小板源生长因子;血小板源生长因子受体;细胞凋亡;辐射耐受性

Platelet derived growth factor and its receptor and the radiation resistance of tumor cells

YANG Xue-qin, LIU Fen-ju

(Department of Radiology, School of Radiology and Public Health, Soochow University, Suzhou 215123, China)

【Abstract】 Platelet derived growth factor(PDGF)and platelet derived growth factor receptor(PDGFR) are abnormally synthesized following the autocrine growth activation in a number of malignant tumors. PDGF is a effective mitogen and chemical agent, PDGFR belongs to tyrosine kinase receptors. After binding with corresponding ligand, PDGFR is activated and lead to activate a series of downstream signal pathways and has resulted in many biological effects. PDGF and PDGFR signal pathway is associated with radiation resistance of tumor cells, and the mechanism is likely to be related to cell proliferation, suppressing apoptosis, and regulating cell cycle arrest.

【Key words】 Platelet-derived growth factor; Receptor, platelet-derived growth factor; Apoptosis; Radiation tolerance

血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)的异常合成和随之的自分泌生长刺激可使具有血小板衍生生长因子受体(PDGF receptor, PDGFR)的细胞发生瘤样转化,其转化程度与肿瘤血管生成、转移、预后有关。临床上,放射治疗是对恶性肿瘤采用的有效辅助疗法,而PDGF和PDGFR的表达水平则与肿瘤的辐射抗性呈正相关,因此,研究PDGF和PDGFR激活后导致肿瘤辐射抗性改变的内在机制,以及PDGFR特异性抑制剂提高辐射敏感性的效果是目前关注的热点问题,也是本综述的目的所在。

1 PDGF和PDGFR

1.1 PDGF

最初认为,PDGF是全血中的一种成份,无细

胞的血浆中不存在,随后在人的血小板中纯化。最近研究表明,多种细胞可以产生PDGF,它是结缔组织细胞如成纤维细胞、平滑肌细胞、血管内皮细胞及神经元等细胞的强有丝分裂原和化学驱动剂。PDGF由两条多肽链通过二硫键连接成同二聚体或异二聚体,有4种不同的多肽链:PDGF-A、PDGF-B、PDGF-C和PDGF-D^[1-3],每条链分别由位于染色体7、22、4和11上单独的基因表达^[4],分子质量为 $28 \times 10^3 \sim 35 \times 10^3$ 。研究发现,PDGF存在5种二聚体:PDGF-AA、PDGF-AB、PDGF-BB、PDGF-CC、PDGF-DD。PDGF-B链是原癌基因sis的编码产物,其纯合二聚体PDGF-BB是强有丝分裂原,具有促使细胞进入G₁/S细胞周期的活性^[5]。PDGF-C链和PDGF-D链是2001年才发现的新成员^[6],这两种肽链均含有一个N端CUB结构域及C端PDGF和血管内皮生长因子结构域,中间由铰链区连接;只有经细胞外蛋白水解酶从铰链区除去CUB结构域后,余下PDGF和血管内皮生长因子

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30870585)

作者单位:215123,苏州大学医学部放射医学与公共卫生学院放射生物学教研室

通讯作者:刘芬菊(E-mail:fangsh@suda.edu.cn)

结构域才有生物活性^[7]。

1.2 PDGFR

PDGFR 最早在成纤维细胞和平滑肌细胞有大量表达,在肾、睾丸和脑中也有表达。PDGFR 由两条多肽链形成同二聚体或异二聚体,有 2 种多肽链: α -PDGFR 和 β -PDGFR。 α -PDGFR 链和 β -PDGFR 链属于受体蛋白酪氨酸激酶家族,结构分为三部分:细胞外结构域、单次跨膜片段和被分割的胞内酪氨酸激酶区。 α -PDGFR 链和 β -PDGFR 链的最大差异在于表达方式不同,因而功能也不相同。另外,两种肽链激活的底物蛋白也略有差异: α -PDGFR 链中 Tyr825 的自身磷酸化及其引起的构型变化是信号转导所必需的,它参与受体的酪氨酸激酶活性:使血管紧张素 II 磷酸化而活化,使 Src 家族的酪氨酸激酶磷酸化而活化; β -PDGFR 链中 Tyr740 和 Tyr751 的磷酸化与磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidyl inositol 3-kinase, PI3K) 的活化有关。

除 PDGF-DD 外的所有二聚体都可以结合和激活同二聚体受体 $\alpha\alpha$ -PDGFR, 而 PDGF-BB 和 PDGF-DD 可结合并激活 $\beta\beta$ -PDGFR。另外,所有 PDGF 二聚体(除 PDGF-AA 外)激活细胞中异二聚体受体 $\alpha\beta$ -PDGFR。PDGF 和 PDGFR 结合后,诱导受体二聚化,引起受体的自动磷酸化,从而导致受体活化,为底物蛋白与之结合提供了结合位点,这些底物蛋白均有一个保守的结构片段,即同源片段 src 同源区 2 (src homology 2, SH2)。SH2 是一段约含 100 个氨基酸残基的保守序列,其在介导受体信号转导中起到重要作用。结合的含 SH2 结构域的底物蛋白聚集到特殊的磷酸化酪氨酸残基上,从而激活细胞内的信号转导通路。小鼠组织培养和体内模型显示, $\alpha\alpha$ -PDGFR、 $\beta\beta$ -PDGFR 和 $\alpha\beta$ -PDGFR 激活不同的信号转导通路,最终诱发了各种细胞效应,包括细胞的增殖、分化和迁移。

2 PDGF 和 PDGFR 在肿瘤细胞中的表达

PDGF 或 PDGFR 基因的改变可使得一些肿瘤细胞的有丝分裂活动增强。表皮纤维肉瘤可能是在 I 型胶原 $\alpha 1$ 启动子调控下 PDGF-B 外显子 2 发生染色体转位所致; KIT 基因和 α -PDGFR 基因同时突变可能是胃肠道间质肿瘤的发病机制。高嗜伊红细胞综合征可能是由于 α -PDGFR 基因中缺失 4q12, FIP1L1 (Fip1-like 1) 基因和 α -PDGFR 基因

融合在一起,形成一种新的融合酪氨酸激酶 FIP1L1- α -PDGFR, 由于 FIP1L1 刺激,导致 α -PDGFR 持续处于激活状态^[8]。恶性神经胶质细胞瘤和肺动脉内膜肉瘤中可见 α -PDGFR 表达增加,提示与受体基因扩增引起自分泌增加有关。另外,染色体 5 和 12 转位产生的融合蛋白 TEL- β -PDGFR 可能与一些慢性粒细胞白血病有关。但是绝大多数与 PDGF 刺激有关的肿瘤的 PDGFR 高表达并没有基因改变。神经管母细胞瘤、恶性神经胶质瘤和卵巢肿瘤等 α -PDGFR 的表达均增加^[9]。

在胶质细胞瘤中,肿瘤细胞既表达 PDGF 又表达 PDGFR, 并且 PDGF 和 PDGFR 自分泌刺激环路在肿瘤的发生和发展的早期起着重要作用。有报道指出,在脑膜瘤、黑色素瘤、神经内分泌癌、卵巢癌、胰腺癌、胃癌、肺癌和前列腺癌等都存在该自分泌刺激环路^[10]。PDGF-BB 与 β -PDGFR 结合后,通过酪氨酸激酶启动细胞的增殖信号,刺激特定细胞群分裂增殖和血管收缩,不仅是肿瘤血管生成诱导因子,也能作用于核内蛋白转录因子,促进细胞生长和分裂^[11]。PDGF 在肿瘤中的自分泌刺激、PDGFR 的过度表达或通过刺激肿瘤内血管生成都会促进肿瘤的生长,同时 PDGF 和 PDGFR 信号还可以调节实体瘤中组织间质液压而影响药物传送。

3 PDGF 和 PDGFR 与辐射抗性

3.1 PDGF 和 PDGFR 信号通路与辐射抗性

PDGF 信号通路能激活众多下游信号通路,其中比较明确的主要有两条途径^[12]: 一条是 Ras 激酶途径。Ras 在细胞内与膜内几个蛋白形成复合体而存在,如生长因子受体结合蛋白 2 (growth factor receptor bound protein 2, Grb2), 它含有 SH2 和两个 src 同源区 3 (src homology 3, SH3) 结构, SH2 与受体酪氨酸蛋白激酶结合,而 SH3 与鸟苷酸释放因子结合。Ras 可在鸟苷酸释放因子作用下释放二磷酸鸟苷,结合三磷酸鸟苷,从而被激活;但使分裂原活化蛋白激酶激酶激酶(又称 Raf)一旦被 Ras 活化,就将分裂原活化蛋白激酶激酶磷酸化活化,进而使分裂原活化蛋白激酶磷酸化活化,通过这种途径将转录因子磷酸化, MAPK 或磷酸化的转录因子进入核内调节与生长有关的基因转录。另一条是 PI3K/Akt 通路。磷酸肌醇代谢的快速刺激和多种第二信使的生成是重要的抗凋亡通路, PDGF 还能

活化信号转导和转录激活因子、胁迫活化蛋白激酶、核因子 κ B 等。PDGF 和 PDGFR 活化后增加肿瘤细胞辐射抗性很大程度上依赖于其下游信号通路,总的效应是可以促进细胞增殖、抑制凋亡,从而增加辐射抗性。

3.2 PDGF 和 PDGFR 影响细胞周期与辐射抗性

细胞的辐射抗性随周期时相而变化:在 G_1 期有一定的抗性,然后随着向 S 期移动抗性下降,进入 S 期后抗性又逐渐升高,到 S 末期抗性达到最高;进入 G_2 期与 M 期,细胞抗性达到最低,即细胞对辐射的抗性按 M 期、 G_2 期、 G_1 期、早 S 期、晚 S 期依次递增,M 期抗性最低,S 期的对辐射的抗性最强。肿瘤细胞在照射后有丝分裂延迟,延迟的特征是 G_1 期阻滞和 G_2 期阻滞。辐射后许多细胞发生 G_2 期阻滞,研究表明, G_2 /M 期移行需要周期蛋白 B1/P34-CDC2 复合物,辐射后细胞周期蛋白 B1 mRNA 表达明显抑制,导致 G_2 期阻滞, G_2 /M 期延迟与细胞辐射敏感性有关,细胞中未修复的 DNA 损伤越多, G_2 /M 期延迟越长。哺乳动物细胞 G_1 期阻滞受野生 p53 调控,由于肿瘤细胞常有 p53 突变,使 G_1 期阻滞较 G_2 期阻滞少见,p53 在辐射后诱导 p21、p27 表达,p21、p27 能刺激 DNA 修复并阻止 DNA 复制,导致 G_1 期阻滞。

PDGF 和 PDGFR 及其下游信号通路在调控细胞周期有一定的作用,有两条途径导致细胞周期变化^[13]:一条是 G_1 期阻滞的抑制使得细胞周期向 S 期转移:PDGF 和 PDGFR 活化,刺激周期蛋白 D1 的积累,与细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4, CDK4) 和细胞周期蛋白依赖性激酶 6 (cyclin-dependent kinase 6, CDK6) 形成复合物周期蛋白 D1-CDK4-CDK6,该复合物磷酸化视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, Rb) 蛋白,释放少量的转录因子 E2F, E2F 将驱动细胞周期蛋白 E 和 CDK2 形成复合物,复合物进一步磷酸化 Rb,释放 E2F,转录因子 E2F 家族刺激启动向 S 期转移的基因转录,使得细胞辐射抗性增加。另一条是 G_1 期 CDK 的抑制蛋白 p27 的减少,使得细胞由 G_1 期向 S 期转移,细胞辐射抗性增加。p27^{Kip1} (kinase inhibition protein 1) 和 p21^{Cip1} (cyclin inhibition protein 1) 共同刺激周期蛋白 D-CDK4-CDK6 复合物的形成,至少有三种途径抑制 p27^{Kip1}: ①生长因子抑制合成 p27^{Kip1},其途径是通过 PI3K/Akt 抑制

AFX/FKHR (AFX/FKHR 是接头转录因子) 从而抑制了 p27^{Kip1} 的表达; ②周期蛋白 E-CDK2 磷酸化 p27^{Kip1} 和抑制 p27^{Kip1} 合成; ③周期蛋白 D-CDK4-CDK6 阻滞 p27^{Kip1} 与之结合,这是通过 PI3K/Akt 抑制糖原合成酶 3 β 从而抑制了周期蛋白 D 的磷酸化,阻滞 p27^{Kip1} 与复合物结合。

这些结果提示,阻断 PDGF 和 PDGFR、减少辐射抗性的机制可能是由于细胞停留在对辐射相对敏感的 G_1 期、而对辐射抗拒的 S 期细胞减少有关。

3.3 PDGF 和 PDGFR 影响细胞凋亡与辐射抗性

辐射诱导的细胞凋亡在肿瘤临床放射治疗中具有重要地位,PDGF 和 PDGFR 的激活能够抑制肿瘤细胞的凋亡,引起肿瘤细胞的辐射抗性。Marius 等^[14] 研究发现,PDGF 与 α -PDGFR 结合,激活 PI3K/Akt,负调控 Src 激酶; Akt 抑制凋亡接头转录因子,使得凋亡受阻。

PDGF 和 PDGFR 抑制凋亡的机制是复杂的,其关键是 PDGF 和 PDGFR 通过其下游的信号通路作用,调节细胞内的抑制凋亡蛋白上升和诱导凋亡蛋白下降,增加了肿瘤细胞的辐射抗性。使用 PDGFR 抑制剂能明显促进辐射诱导的细胞凋亡。

综上所述,PDGF 和 PDGFR 在多种恶性肿瘤中都有异常合成和随之伴发的自分泌生长刺激,PDGF 和 PDGFR 信号通路的激活增强了肿瘤细胞的辐射抗性,实验表明这与 PDGF 和 PDGFR 激活后促进增殖、抑制凋亡、调控细胞周期等生物效应有关,但是,PDGF 和 PDGFR 通路促进肿瘤细胞在辐射后存活的具体机制目前还不是很清楚。最近的治疗研究表明,抑制 PDGF 和 PDGFR 增加细胞的辐射敏感性,应用 PDGF 特异性酪氨酸激酶抑制剂治疗恶性肿瘤的前景广阔。

参 考 文 献

- [1] Li X, Pontén A, Aase K, et al. PDGF-C is a new protease-activated ligand for the PDGF α -receptor[J]. Nat Cell Biol, 2000, 2(5): 302-309.
- [2] Bergsten E, Uutela M, Li X, et al. PDGF-D is a specific, protease-activated ligand for the PDGF β -receptor[J]. Nat Cell Biol, 2001, 3(5): 512-516.
- [3] Fredriksson L, Li H, Eriksson U. The PDGF family: four gene products form five dimeric isoforms [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2004, 15(4): 197-204.
- [4] Uutela M, Laurén J, Bergsten E, et al. Chromosomal location, exon structure, and vascular expression patterns of the human PDGFC

- and PDGFC genes[J]. *Circulation*, 2001, 103(18): 2242-2247.
- [5] Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor[J]. *Physiol Rev*, 1999, 79(4): 1283-1316.
- [6] Li X, Eriksson U. Novel PDGF family members: PDGF-C and PDGF-D[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2003, 14(2): 91-98.
- [7] Heldin CH, Eriksson U, Ostman A. New members of the platelet-derived growth factor family of mitogens[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 398(2): 284-290.
- [8] Cools J, DeAngelo DJ, Gotlib J, et al. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(13): 1201-1214.
- [9] MacDonald TJ, Brown KM, LaFleur B, et al. Expression profiling of medulloblastoma: PDGFRA and the RAS/MAPK pathway as therapeutic targets for metastatic disease [J]. *Nat Genet*, 2001, 29(2): 143-152.
- [10] Ostman A. PDGF receptors-mediators of autocrine tumor growth and regulators of tumor vasculature and stroma[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004, 15(4): 275-286.
- [11] Pietras K, Sjöblom T, Rubin K, et al. PDGF receptors as cancer drug targets[J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(5): 439-443.
- [12] Tallquist M, Kazlauskas A. PDGF signaling in cells and mice[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004, 15(4): 205-213.
- [13] Jones SM, Kazlauskas A. Growth factor-dependent signaling and cell cycle progression[J]. *FEBS Lett*, 2001, 490(3): 110-116.
- [14] Vantler M, Huntgeburth M, Caglayan E, et al. PI3-kinase/Akt-dependent antiapoptotic signaling by the PDGF α receptor is negatively regulated by Src family kinases[J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(30): 6769-6776.

(收稿日期: 2007-11-14)

低剂量照射在肿瘤治疗中的应用研究进展

张海兵 章龙珍

【摘要】 电离辐射生物效应与辐射剂量和剂量率有关,大、中剂量照射以损伤效应为主,低剂量照射可诱导机体的兴奋效应、适应性反应、超敏感性、旁效应等。低剂量全身照射通过诱导免疫增强效应、超敏感性、激活抗氧化酶系统及肿瘤细胞凋亡等机制具有抗肿瘤作用,降低随后较大剂量照射诱发的肿瘤发生率。目前,低剂量照射在肿瘤防治中的应用正成为研究的热点。

【关键词】 辐射剂量; 全身照射; 辐射耐受性; 细胞凋亡; 肿瘤治疗方案

Advance of treatment in tumor by low-dose radiation

ZHANG Hai-bing¹, ZHANG Long-zhen²

(1. Department of Radiation Oncology, Centrol Hospital of Huzhou, Zhejiang Huzhou 313000, China;

2. Department of Radiation Oncology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China)

【Abstract】 The biological effects of ionizing irradiation is related with dose and dose-rate. Medium to large dose irradiation can induce damaging effect to biosystem, but low dose radiation may induce adaptive response, hormesis, hyper-sensitiveness and bystander effect. Especially experimental data suggest that the antitumor effects of immune enhancement, intrinsic hypersensitivity, activation antioxidase enzymatic system and induction of apoptosis is produced by low-dose total body irradiation. Furthermore it can decrease relative cancer risk in exposed populations. Therefore, the antitumor effect by low-dose irradiation is being widely investigated and intensively researched.

【Key words】 Radiation dosage; Whole-body irradiation; Radiation tolerance; Apoptosis; Antineoplastic protocols

全身照射按照射剂量及目的可分为大剂量全

身照射和低剂量全身照射。当全身照射剂量大于 100 cGy 时,可产生辐射损伤,且损伤程度与剂量呈正相关;当全身照射剂量超过 200 cGy 时,可出现致死效应。而低剂量辐射的生物学效应与传统

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30770916)

作者单位: 1. 313000, 浙江省湖州市中心医院放疗科(张海兵);
2. 221002, 徐州医学院附属医院放疗科(章龙珍)

通讯作者: 章龙珍 (E-mail: jsxzzlz@126.com)