

贾绍辉
著

大炎肽促进肿瘤发生
的机理研究



DAYANTAI

DAYANTAI CUJIN ZHONGLIU
FASHENG DE JILI YANJIU



华中科技大学出版社
<http://www.hustp.com>

贾绍辉
著

大炎肽促进肿瘤发生 的机理研究



DAYANTAI

DAYANTAI CUJIN ZHONGLIU
FASHENG DE JILI YANJIU



华中科技大学出版社
<http://www.hustp.com>

中国·武汉

图书在版编目(CIP)数据

大炎肽促进肿瘤发生的机理研究/贾绍辉著. —武汉:华中科技大学出版社, 2018. 2
ISBN 978-7-5680-2933-9

I. ①大… II. ①贾… III. ①肿瘤-研究 IV. ①R73

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 126891 号

大炎肽促进肿瘤发生的机理研究

贾绍辉 著

Dayantai Cujin Zhongliu Fasheng de Jili Yanjiu

策划编辑: 曾 光

责任编辑: 狄宝珠

封面设计: 抱 子

责任监印: 徐 露

出版发行: 华中科技大学出版社(中国·武汉)
武汉市东湖新技术开发区华工科技园

电话: (027)81321913

邮编: 430223

录 排: 武汉正风天下文化发展有限公司

印 刷: 虎彩印艺股份有限公司

开 本: 710mm×1000mm 1/16

印 张: 8.25

字 数: 142 千字

版 次: 2018 年 2 月第 1 版第 1 次印刷

定 价: 48.00 元



华中出版

本书若有印装质量问题, 请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线: 400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

前言

Daintain/AIF-1 是一个由巨噬细胞、T 淋巴细胞所产生的新型炎症因子，具有激活巨噬细胞的功能。Daintain/AIF-1 在自身免疫性疾病以及与炎症相关疾病的发生发展进程中发挥重要作用。已有的研究表明 Daintain/AIF-1 能够促进血管平滑肌细胞的增殖与迁移，从而加速动脉粥样硬化的形成。Daintain/AIF-1 也被发现与多种炎性自身免疫性疾病的发生发展相关联，如神经炎、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、糖尿病等。我们实验室的前期研究发现 Daintain/AIF-1 能够促进乳腺癌细胞的增殖与迁移，从而揭开了 Daintain/AIF-1 与癌症发生与发展的研究序幕并且阐明了 Daintain/AIF-1 在炎症-癌症链中的关键作用。

肝癌是指发生于肝脏的恶性肿瘤，包括原发性肝癌和转移性肝癌两种，人们通常所说的肝癌是指原发性肝癌。原发性肝癌为世界十大恶性癌症之一，流行病学调查结果显示全世界每年肝癌新发和死亡数目约占所有癌症的 5.4%，并且呈逐年升高趋势。炎症是原发性肝癌重要的致病因素，与肝癌的发生和转移密切相关。在肝组织上存在一类特殊巨噬细胞——库普弗细胞，而且已有报道 Daintain/AIF-1 在肝组织中的库普弗细胞中呈现阳性表达，于是我们推测 Daintain/AIF-1 可能参与了肝癌的发生发展进程。在陈等的研究中发现 Daintain/AIF-1 在血吸虫所致肝硬化的肝组织以及血清中呈现一种动态升高的状态，在急性感染期 Daintain/AIF-1 表达水平达到最高值，而当用 Daintain/AIF-1 抗体进行干预治疗时，可以减少血吸虫所致肝硬化的发生。在本书中，我们主要考察了炎症因子 Daintain/AIF-1 对肝癌细胞生物学形态的影响。我们的实验结果表明，Daintain/AIF-1 在肝癌组织中高表达，而在癌旁组织以及正常组织中表达量很低。进一步深入研究发现 Daintain/

AIF-1 可以激活 IGF-1/IGF-1R 信号通路,进而上调细胞周期蛋白 Cyclin D1 和 CDK4 的表达,然后加快细胞周期从 G0/G1 到 S 期和 G2/M 期的进程,最终导致细胞增殖与迁移。同时我们也发现 Daintain/AIF-1 能够增加 HepG2 细胞表面 FasL 表达,从而加速肝癌细胞 HepG2 的免疫逃逸。另外 Daintain/AIF-1 可以通过增加抗肿瘤药物的外排,从而产生耐药性。深入机制发现 Daintain/AIF-1 还可以激活肝癌细胞 HepG2 的自噬,降低其凋亡,同时 Daintain/AIF-1 还可以增强肝癌细胞 HepG2 抗氧化的能力。

综上所述,Daintain/AIF-1 能够通过促进肝癌细胞 HepG2 的生长与增殖、抑制其凋亡、增加其对抗外界压力的能力等方面提供有利于肿瘤细胞生长的环境。这些研究结果为“炎症-癌症”理论提供了新的支持,同时,也提出了一条新的以 Daintain/AIF-1 为靶点的肝癌治疗方案。

目 录

第一章 绪论	1
1.1 肝癌	1
1.1.1 肝癌的定义与分类	1
1.1.2 肝癌的现状	1
1.1.3 肝癌的发病机理	1
1.1.4 肝癌的预防与治疗	2
1.2 Daintain/AIF-1 研究进展	2
1.2.1 Daintain/AIF-1 的发现及同系物	2
1.2.2 Daintain/AIF-1 的结构与功能研究	4
1.3 炎症与肝癌的发生发展	10
1.3.1 肝炎病毒与肝癌	11
1.3.2 IL-6、TNF- α 与肝癌	11
1.3.3 TGF- β 与肝癌	12
1.3.4 C 反应蛋白(CRP)与肝癌	12
1.4 立题依据以及研究意义	13
1.4.1 立题依据	13
1.4.2 本研究的意义	14
第二章 Daintain/AIF-1 对肝癌细胞微环境的影响	15
2.1 材料与方法	18
2.1.1 实验材料和实验仪器	18
2.1.2 实验方法	21
2.2 实验结果与讨论	32

2.2.1 实验结果	32
2.2.2 讨论	35
2.3 总结与展望	35
2.3.1 本章总结	35
2.3.2 有待于进一步开展的工作	36
第三章 Daintain/AIF-1 对 HepG2 细胞生长以及迁移的影响	37
3.1 材料和方法	44
3.1.1 实验材料和实验仪器	44
3.1.2 细胞培养液及常用溶液配制	45
3.1.3 实验方法	46
3.2 实验结果与讨论	51
3.2.1 实验结果	51
3.2.2 讨论	60
3.3 总结与展望	62
3.3.1 总结	62
3.3.2 展望	63
第四章 Daintain/AIF-1 促进了 HepG2 细胞的免疫逃逸	64
4.1 材料和方法	68
4.1.1 实验材料和实验仪器	68
4.1.2 细胞培养液及常用溶液配制	69
4.1.3 实验方法	69
4.2 结果与讨论	71
4.2.1 结果	71
4.2.2 讨论	77
4.3 总结与展望	77
4.3.1 总结	77
4.3.2 展望	78
第五章 Daintain/AIF-1 强化了 HepG2 细胞对顺铂的耐药性	79
5.1 材料和方法	80
5.1.1 实验材料与仪器	80
5.1.2 实验方法	80
5.2 实验结果与讨论	83

5.2.1 实验结果	83
5.2.2 讨论	86
5.3 总结与展望	88
第六章 Daintain/AIF-1 激活肝癌细胞自噬对抗凋亡	89
6.1 材料和方法	90
6.1.1 实验材料和实验仪器	90
6.1.2 实验方法	91
6.2 实验结果	95
6.2.1 Daintain/AIF-1 激活了肝癌细胞的自噬信号通路	95
6.2.2 Daintain/AIF-1 通过激活肝癌细胞的自噬信号促进细胞增殖,抑制凋亡	95
6.2.3 Daintain/AIF-1 通过调节 microRNA 的表达激活自噬	97
6.3 讨论与总结	98
第七章 Daintain/AIF-1 与其他癌症	101
第八章 总结	103
致谢	105
参考文献	107

第一章 绪论

1.1 肝癌

1.1.1 肝癌的定义与分类

肝癌是指发生于肝脏的恶性肿瘤,包括原发性肝癌和转移性肝癌两种,人们通常所说的肝癌是指原发性肝癌。原发性肝癌按细胞分型可分为肝细胞型肝癌、胆管细胞型肝癌和混合型肝癌;按细胞形态分型可分为结节型、巨块型和弥漫型。

1.1.2 肝癌的现状

据最新统计,全世界范围内,所有癌症中,肝癌的发生率在男性中居第5位,而在女性中居第8位。报道显示,每年新增肝癌病人为50 000人,每年肝癌死亡人数为600 000人,值得注意的是,这一数据正处于一种上升趋势。低治愈率和高复发率是肝癌的两个显著特征,临床已确诊的肝癌病人治愈率仅为20%,而且肝癌的复发率高达70%。

原发性肝癌在我国属于发病率较高的癌症之一,一般男性发病率高于女性。目前我国肝癌发病人数约占全球肝癌病人的55%,半数以上,肝癌的高发病率已经成为严重威胁我国人民健康和生命的一大杀手,其危险性不容小视。

1.1.3 肝癌的发病机理

总体来说,原发性肝癌的发病机理至今未能完全被阐明。但已证明可能

由以下因素引起。

(1) 病毒感染:流行病学统计数据显示,乙型肝炎的感染率与肝癌的发生呈线性相关,据统计有过乙肝病毒感染经历的人与未患过乙肝的人相比,肝癌的发生概率要高 10 倍之多,同时乙肝流行地区也是肝癌高发地区。

(2) 长期临床观察中发现,肝癌发生主要经历肝炎、肝硬化、肝癌三步,俗称“三部曲”。近些年的研究表明,与肝癌发生密切相关的病毒主要是乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV),其中以乙型肝炎病毒最常见。

(3) 酒精:酒能伤肝是我们大家都熟知的。但酒精并不是肝癌发生的直接诱因,它的作用类似于催化剂,能促进肝癌的发生与发展。这是因为酒精进入机体后,主要是在肝脏代谢,酒精对肝细胞的毒性使肝细胞对脂肪酸的分解和代谢发生障碍,因而引起肝内脂肪沉积而导致脂肪肝的产生。饮酒越多,脂肪肝就越严重,进而引起肝纤维化、肝硬化和肝癌的发生。

(4) 与饮食相关因素:肝癌的发生与生活习惯息息相关。长期进食霉变食物、含亚硝胺食物、微量元素硒缺失也是促发肝癌的重要因素。黄曲霉素 B1 是目前已被证明有明确致癌作用的物质,主要存在于霉变的食物中,如玉米、花生、大米等。另外摄食大量的含有亚硝酸盐的食物,亚硝酸盐在体内不能及时排出,可在体内转化为亚硝胺物质,具有明显的致癌作用。

(5) 其他因素:另外肝癌的发生也与遗传、寄生虫有密切的关系。

1.1.4 肝癌的预防与治疗

(1) 目前肝癌最有效的治疗手段主要是肝切除和肝移植。

(2) 免疫疗法:常用的免疫疗法主要是肿瘤疫苗和 T 细胞的使用,虽然免疫疗法被认为是肝癌治疗的有效手段,但是免疫疗法并未在临床上广泛使用。

1.2 Daintain/AIF-1 研究进展

1.2.1 Daintain/AIF-1 的发现及同系物

AIF-1 是 Utans 及其同事在研究小鼠同种异体排斥反应时,从发生排斥反应小鼠心脏组织中克隆出来的一个蛋白,经过鉴定后命名为 AIF-1

(allograft inflammatory factor, AIF-1)。

随后的报道中, Yoshinori Imai 及其同事又从小鼠小胶质瘤细胞中克隆并鉴定出一个新的蛋白, 命名为离子钙结合蛋白 (ionized Ca^{2+} -binding adaptor1, Iba1)。这个蛋白分子量大小为 17 kDa, 具有一个 EF 手型的特殊结构, 现有的研究表明 Iba1 在人和大鼠的单核细胞系中均有表达, 该蛋白与大脑中小胶质瘤细胞的活化有关。

1997 年, 陈等发现并报道了一个从猪小肠中分离纯化出来的蛋白, 命名为 Daintain, 中文名为: 大炎肽。

1998 年, Tanaka 等在研究神经退行性病变时发现一个新的小胶质细胞蛋白并命名为小胶质细胞反应分子 (microglia response factor, MRF), 该蛋白能应答神经细胞的退化及死亡。

经序列比对发现上述四种蛋白 (AIF-1, Iba1, Daintain 和 MRF) 具有很高的序列同源性, 于是我们将它们视为同系物, 并称为 Daintain/AIF-1。但是其功能上是否一致还有待于深入研究, 现有已报道的 AIF-1 家族成员见图 1.1。

New name	Species	Old name	Date	Type	Authors	Accession number	Description
AIF-1	Human	AIF-1	28.10.95	complete cds	Utans, U., Arcoci, R.J., Yamashita, Y., Russell, M.E.	U17919	AIF-1
?	Human	AIF-1	16.03.96	complete cds	Utans, U., Arcoci, R.J., Yamashita, Y., Russell, M.E.	U49392	Differs from AIF-1 at N-terminal end: TGPPAKKAISELP > TPPSQESPI
AIF-1	Mouse	AIF-1	15.05.98	complete cds	Watano, K., Iwabuchi, K., Fujii, S.	AB013745	AIF-1
AIF-1	Pig	Daintain	15.12.98	protein	Chen, Z.W., Ahren, B., Ostenson, C.G., Cintra, A., Bergman, T., Moller, C., Fuxe, K., Mutt, V., Jomvall, H., Efendic, S.	P81076	AIF-1
AIF-1	<i>Chrysophrys major</i>	AIF-1	09.01.99	complete cds	Miyata, M., Iinuma, K., Miyazaki, T.	AB019540	AIF-1
AIF-1	Rat	MRF-1	05.02.99	complete cds	Tanaka, S.	AB000818	AIF-1
AIF-1	Rat	Iba1	06.02.99	complete cds	Imai, Y.	D82069	AIF-1
AIF-1	Human	Iba1	07.02.99	complete cds	Imai, Y.	D86438	AIF-1
AIF-1	Mouse	Iba1	11.11.99	complete cds	Imai, Y., Ohsawa, K., Kohsaka, S.	D86382	AIF-1
AIF-1	Pig	AIF-1	10.12.00	partial cds	Mentschel, J., Deininger, M.H.	AF299326	AIF-1
AIF-1	<i>Bos taurus</i>	AIF-1	08.04.01	complete cds	Glover, M.D., Seidel, G.E. Jr.	AF348450	AIF-J
AIF-2	Human	IRT-1	26.06.98	complete cds	Autieri, M.V., Agrawal, N.	U95213	AIF-1 splice variant IRT-1
AIF-2	Human	IRT-1	27.06.01	complete cds	Iris, F., Bougucleret, L., Prieur, S., Caterina, D., Primas, G., Perrot, V., Jurka, J., Rodriguez-Tome, P., Claverie, J., Cohen, D., Dausset, J.	NM_004847	AIF-1 splice variant IRT-1
AIF-3	Pig	G1	10.12.00	complete cds	Mentschel, J., Deininger, M.H.	AF299325	AIF-1 splice variant G1
AIF-3	Human	G1	10.12.00	complete cds	Deininger, M.H., Trautmann, K.	AF299327	AIF-1 splice variant G1
AIF-3	Rat	G1	10.12.00	complete cds	Deininger, M.H., Schluesener, H.J., Trautmann, K.	AF299328	AIF-1 splice variant G1
AIF-3	Human	G1	27.06.01	complete cds	Iris, F., Bougucleret, L., Prieur, S., Caterina, D., Primas, G., Perrot, V., Jurka, J., Rodriguez-Tome, P., Claverie, J., Cohen, D., Dausset, J.	NM_032955	AIF-1 splice variant
AIF-4	Human	none	10.12.00	partial cds	Deininger, M.H., Trautmann, K., Schluesener, H.J.	AF299329	AIF-1 splice variant originally described by Hara et al.
AIF-5	Human	none	Biol. Chem. 380 (1999) 1333-1336	partial cds	Hara, H., Ohta, M., Ohta, K., Nishimura, M., Obayashi, H., Adachi, T.	None	AIF-1 splice variant originally described by Hara et al.

图 1.1 AIF-1 家族蛋白成员

之后的研究中,又陆续报道出多种 Daintain/AIF-1 的剪切体(isoform),如 Hara 及其同事报道的来自于人外周血细胞中的 4 种 AIF-1 剪切变异体:IRT-1,BART-1,G1 和另一种未知剪切体。不同的剪切方式产生不同的剪切体,但是每个剪切体都包含一个数目不等的外显子和转录启动子(见图 1.2)。

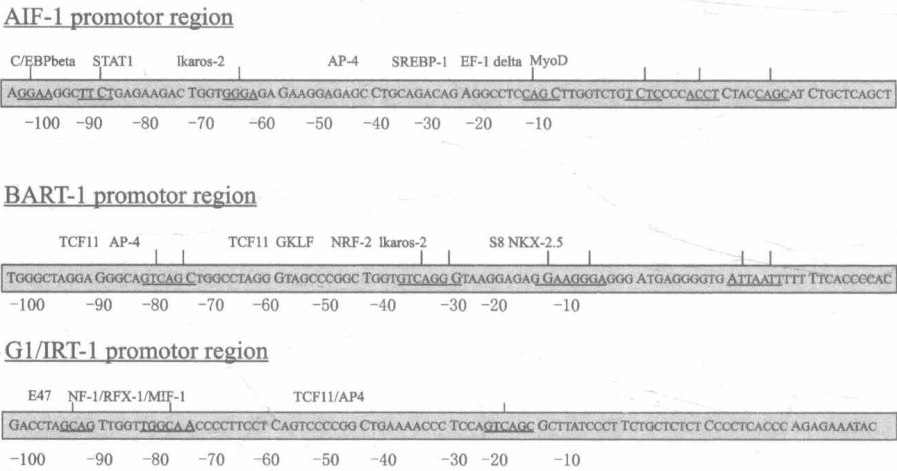


图 1.2 不同剪切体的启动子区域分析

1.2.2 Daintain/AIF-1 的结构与功能研究

1.2.2.1 Daintain/AIF-1 的结构特点

1. EF 手型结构

Daintain/AIF-1 分子内含有一个 EF 手型序列,该序列被认为是钙结合蛋白的典型特征,这暗示 Daintain/AIF-1 可能在维持细胞内环境稳态方面发挥作用。EF 手型序列是一个高度保守的序列,当与二价钙离子(Ca²⁺)结合后,使构象发生变化,从而激活下游信号通路。这种钙依赖的信号在细胞进程的诸多方面发挥决定性作用,如:细胞代谢,基因表达,细胞骨架动力学,细胞死亡,神经传导,信号转导以及细胞周期。

2. 多肽激素样前体结构

在 Daintain/AIF-1 的分子内有一个 44 个氨基酸大小的典型结构,其序列中有 KR-KK-GKR 结构,该序列为典型的激素样前体结构。

3. 酪氨酸激活位点

对 Daintain/AIF-1 的结构分析表明,其分子内有 3 个可能的磷酸化位点。其中两个被包围在疏水区,一个磷酸化位点裸露在外。

1.2.2.2 Daintain/AIF-1 在巨噬细胞活化中的作用

1995 年,Utans 等从心脏中浸润的单核细胞中克隆病鉴定出 AIF-1 基因,并发现 AIF-1 能被 TNF α 激活表达。Kohler C 及其同事采用免疫组化的方法检测小鼠中各巨噬细胞中 Daintain/AIF-1 的表达情况,发现除了肺泡巨噬细胞外,几乎所有巨噬细胞亚群都能表达 Daintain/AIF-1,包括正常巨噬细胞、树突状细胞(DC 细胞)、肝脏库普弗细胞(kupffer 细胞)。Hirsch J 等的研究也表明 Daintain/AIF-1 参与了局部缺血或灌注损伤中巨噬细胞的活化。一些学者研究后发现 Daintain/AIF-1 可利用其分子内 EF 手型结构与胞外游离钙离子结合,然后作为第二信使,导致一系列下游途径的活化,如激活巨噬细胞。Watano 等的研究表明,用 LPS 刺激巨噬细胞时,与对照相比,过表达 Daintain/AIF-1 的巨噬细胞产生更多的 IL-6、IL-10 以及 IL-12 等细胞因子。Yang 等的研究表明 Daintain/AIF-1 在巨噬细胞的存活以及促炎症反应活性中发挥重要作用,并且表示 ADAM3 可能是诱导 Daintain/AIF-1 表达的下游效应分子。Tian 及其同事采用 siRNA 干扰技术抑制 Daintain/AIF-1 的表达后,可以降低巨噬细胞的迁移、增殖和信号转导。

另有研究发现,在 LPS 刺激条件下,转入过表达 Daintain/AIF-1 质粒的鼠巨噬细胞 RAW264.7 能够发生形态学上的变化,即巨噬细胞向树突状细胞分化的功能增强,这说明,Daintain/AIF-1 能够促进巨噬细胞的分化。

1.2.2.3 Daintain/AIF-1 在排斥反应中的作用

1. Daintain/AIF-1 与心脏移植

Daintain/AIF-1 最早就是从人和大鼠心脏同种异体排斥反应心脏中克隆并鉴定出来,这一发现暗示我们 Daintain/AIF-1 基因可能与排斥反应的发生发展有着密切的关联。随后相关研究者的报道显示,Daintain/AIF-1 在心脏移植的主动脉平滑肌上呈现短暂性、剧烈性的表达。Autieri MV 的研究表明 Daintain/AIF-1 在心脏同种异体移植中的表达与排斥反应有关,而且其表达总量与排斥反应的严重程度呈现正相关,这更进一步证明了 Daintain/AIF-

1 与心脏排斥反应的关系。

2. Daintain/AIF-1 与肝脏移植

Nagakawaa Y 等的研究表明,在未移植以及同系统基因移植的肝脏中,Daintain/AIF-1 的 mRNA 表达水平很低,而在移植排斥的肝脏中表达量却明显上升;当移植手术完成后 10 天,Daintain/AIF-1 的 mRNA 在急性排斥反应的肝脏中表达量是非排斥反应肝脏中的 4 倍,是排斥耐受肝脏中的 2 倍。

3. Daintain/AIF-1 与肾脏移植

随后,Grimm 等又研究了 Daintain/AIF-1 对肾脏移植排斥反应影响,他们发现,Daintain/AIF-1 在发生移植排斥反应的组织中表达水平明显高于正常组织以及发生亚排斥反应的组织。

1. 2. 2. 4 Daintain/AIF-1 在心血管疾病中的作用

Daintain/AIF-1 在心血管疾病发生发展进程中发挥重要作用,这已成为近年来的研究热点。Galdo FD 等的体外实验表明能表达产生 Daintain/AIF-1 的 T 细胞表现出更强的趋化性,并能诱导正常成纤维细胞的促纤维化基因表型增加。TianY 及其同事的研究表明抑制 Daintian/AIF-1 的表达可以有效降低致动脉粥样硬化样刺激产生的巨噬细胞的增殖、迁移与信号转导;他们在随后的研究中发现过表达的 Daintain/AIF-1 能加速血管内皮细胞的激活、信号转导以及血管生成。当转染入 Daintain/AIF-1 干扰质粒后,可使 Daintain/AIF-1 表达减少 70%,并且显著性地降低内皮细胞的增殖与迁移。Kelemen SE 等向颈动脉损伤的大鼠给予 AIF-1 以及绿色荧光标记的 AIF-1 (AdAIF-1)和空荧光质粒(AdGFP),14 天后,形态学检测发现给予荧光标记 AIF-1(AdAIF-1)的大鼠新内膜的生成分别比给予 AdGFP 以及正常对照组显著性地上升 21.5%和 30.6%。而且,给予 AdAIF-1 的大鼠血管细胞内高表达 G-CSF,正常大鼠血管细胞中 G-CSF 表达量却很低。Fukui M 等对 Daintain/AIF-1 与健康个体中的代谢水平关系进行了研究,研究结果表明,血清中 Daintain/AIF-1 的浓度与禁食后的血浆葡萄糖水平、血红蛋白 A1c、甘油三酯、尿酸以及腰围呈正相关,这提示 Daintain/AIF-1 可能与诸多心血管疾病有关联。Autieri MV 等发现当突变掉 Daintain/AIF-1 分子内的 EF 手型结构时,该蛋白失去了激活血管平滑肌细胞的功能,这说明 EF 手型结构是 Daintain/AIF-1 发挥生物学功能的重要结构域。Autieri MV 等在研究免疫

学和机械性动脉损伤模型中 Daintain/AIF-1 的表达时发现,在大鼠心脏同种异体移植物的中间血管平滑肌细胞(VSMC)上,Daintain/AIF-1 呈现短暂急剧的过表达。移植手术后的 3 到 7 天,Daintain/AIF-1 表达水平达到峰值,而移植手术后的第 10 天开始出现下降;在这些血管组织中,Daintain/AIF-1 定位于血管平滑肌细胞。在进一步研究后,Autieri MV 及其同事发现原代 VSMC 以及 VSMC 细胞株中转入 Daintain/AIF-1 过表达质粒后,促进了 VSMC 细胞的增殖,缩短了细胞周期并且干扰了细胞周期蛋白 CyclinD、CyclinE 以及 CyclinB 等的表达;另外,他们还发现 Daintain/AIF-1 在 VSMC 细胞中的表达水平跟该细胞的生长有关,并且预测 Daintain/AIF-1 的这种功能可能与其钙离子结合域有关。Autieri MV 等随后的研究表明 Daintain/AIF-1 通过促进 VSMC 细胞自分泌 G-CSF 促进了细胞的生长。Autieri MV 等报道,Daintain/AIF-1 能与 actin 以及 Rac 结合,从而促进血管平滑肌细胞(VSMC)的迁移。TianY 等的研究也表明 Daintain/AIF-1 与 Rac2 之间能形成交叉反应,当与 Daintain/AIF-1 相互作用后,导致了 Rac2 的激活,激活了的 Rac2 进一步活化 VSMC 细胞。

1.2.2.5 Daintain/AIF-1 在自身免疫性疾病中的作用

1998 年,Schluesener HJ 等的研究表明,Daintain/AIF-1 与实验性自身免疫性脑髓炎、神经炎以及眼葡萄膜炎有关。1999 年,Schluesener HJ 等在研究地塞米松(dexamethasone)对实验性脑髓炎、神经炎以及眼葡萄膜炎的作用时发现,给药 10~16 天,地塞米松能阻止甚至消除 Daintain/AIF-1 的表达,然而在脑髓炎患者中,给药 20~26 天后会出现一个急剧的反弹。Galdo FD 等的研究表明,在系统性硬化症患者受损害的肺和皮肤组织中,Daintain/AIF-1 呈阳性表达:RT-PCR 检测结果揭示在系统性硬化症患者皮肤中,Daintain/AIF-1 的 mRNA 水平是正常皮肤中的 14 倍;免疫荧光检测结果告诉我们,在受损伤组织的 T 淋巴细胞、巨噬细胞以及内皮细胞中,Daintain/AIF-1 的表达是正常组织中的 2 倍。

2006 年,Galdo FD 在一篇综述中清楚地阐明了 Daintain/AIF-1 跟系统性硬化症发病的关系(见图 1.3),并且肯定 Daintain/AIF-1 在系统性硬化症的发生发展中起很重要作用。

Otieno FG 等在对 239 名高加索系统性硬化症患者中 TNFa 和 AIF-1 单核苷酸基因多态性的分析中发现,外显子为 4A 等位基因的病人与系统性硬

化症的发生密切相关。Alkassab F 等的研究也表明, AIF-1 单核苷酸的多态性与抗着丝点抗体阳性的系统性硬化症有关。

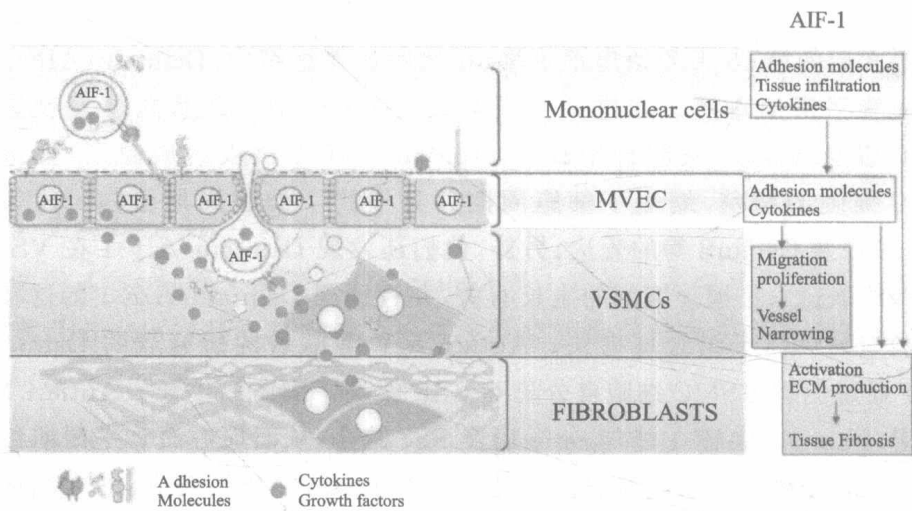


图 1.3 Daintain/AIF-1 在系统性硬化症发病中的作用假设

在 Chen 等分离并鉴定出 Daintain 时,就发现 Daintain 能够影响 BB 大鼠胰腺小岛的分泌功能。本实验室 Huang 等的研究表明 Daintain/AIF-1 可以通过促进 INS-1 细胞中 NO 的产生而加速 INS-1 细胞的凋亡,同时 Daintain/AIF-1 可以降低 INS-1 细胞分泌胰岛素的能力,这说明 Daintain/AIF-1 在 INS-1 细胞的功能紊乱中发挥重要作用,更进一步说明 Daintain/AIF-1 与糖尿病的发生发展密切相关。

另外,Daintain/AIF-1 还被报道与类风湿性关节炎有关。Kimura M 等在研究类风湿性关节炎的发病机理时,发现在类风湿性关节炎的组织中,Daintain/AIF-1 呈阳性表达。Harney SM 等的报道显示类风湿病人外周血淋巴细胞中可见 Daintain/AIF-1 基因表达的上调。迄今为止,越来越多的研究表明 Daintain/AIF-1 参与了类风湿性关节炎的发生发展并且可以作为类风湿性关节炎治疗的一个新靶点。

Chen 等在以 BALB/c 小鼠为模型研究血吸虫所致肝硬化的发生机理时,发现感染血吸虫后,小鼠的肝组织中 Daintain/AIF-1 的表达以及血清中 Daintain/AIF-1 水平呈现一种动态升高的状态,在急性感染期 Daintain/AIF-1 表达水平达到最高值。而当用 Daintain/AIF-1 抗体进行干预治疗时,可以减轻血吸虫所致肝硬化的发生。这些数据表明 Daintain/AIF-1 在血吸虫所导致的

肝硬化形成过程中发挥重要作用。

1.2.2.6 Daintain/AIF-1 在肿瘤发生发展中的作用

早在 1997 年, Popovich PG 就发现 Daintain/AIF-1 参与了脑肿瘤中小胶质细胞的激活。

Daintain/AIF-1 与肿瘤发生发展的关系研究起源于炎-癌之间的密切关系这一理论。真正最早展开关于 Daintain/AIF-1 与癌症发生发展关系的研究在于武汉口腔医院的 Jia 等提出的一个假说, 在该假说中, 他们认为血管瘤是发生于血管内皮细胞的一种肿瘤, 该肿瘤发生的早期, 内皮细胞表现出一种快速增殖的特征, 而已有的研究表明 Daintain/AIF-1 能够促进内皮细胞的增殖、迁移与信号转导, 因此推测 Daintain/AIF-1 可能与血管瘤的发生发展有一定关系。随后, 他们又证实了 Daintain/AIF-1 确实参与了血管瘤的发生发展进程。在选择的 19 个临床血管瘤标本中, 高达 17 个标本中 Daintain/AIF-1 呈强阳性表达, 阳性表达率高达 89.5% 左右, 而这些表达的 Daintain/AIF-1 均定位于血管平滑肌细胞, 因此作者提出 Daintain/AIF-1 可作为血管瘤诊断的一项检测指标。

2008 年, 本实验室 Liu 等通过免疫组化的方法检测到 Daintain/AIF-1 在乳腺导管癌细胞中呈阳性表达, 而在邻近的癌旁组织或者正常的乳腺导管组织中不表达或者表达量很低; 进一步的体外实验研究表明 Daintain/AIF-1 能够上调乳腺癌细胞 MDA-MB-231 细胞中细胞周期蛋白 cyclin D1 的表达并且促进炎症因子 NF- κ B 的活化, 最终导致乳腺癌细胞 MCF-7 的细胞增殖。

随后, 本实验室的 Li 等在体外对 Daintain/AIF-1 影响乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 和 MCF-7 的细胞生物学功能进行了深入研究。他们将 Daintain/AIF-1 干扰质粒转入人单核细胞 U937 从而抑制 Daintain/AIF-1 的表达, 然后用 U937 的条件培养基培养 MDA-MB-321 和 MCF-7 细胞, 结果发现干扰后的条件培养基培养这两株乳腺癌细胞后可使其迁移能力显著性地下降, 进一步的机理研究表明, Daintain/AIF-1 能够激活 p38MAPK 信号途径, 进而上调细胞中以及微环境中 TNFa 的含量, 最后导致促进乳腺癌细胞的迁移能力。