

# 神经母细胞瘤中前动力蛋白表达的研究进展

王 栋<sup>1</sup> 综述 詹江华<sup>2</sup> 审校

前动力蛋白(Prokineticins, PROKs)是存在于人体和动物组织中的具有多种功能的分泌蛋白质,他们参与机体许多组织的多种活动,包括:胃肠道平滑肌收缩<sup>[1]</sup>;促进卵巢和睾丸的血管生成;诱导肾上腺皮质来源的内皮细胞增生、迁移和穿通<sup>[2]</sup>;作为生存因子调节先天和后天免疫系统,包括造血干细胞和淋巴细胞等的生长、生存及功能<sup>[3]</sup>;神经元存活<sup>[4]</sup>;疼痛感觉<sup>[5]</sup>等。目前已知 PROKs 有两种亚型,即 PROK-1 和 PROK-2。近年来,已有研究证实其与肿瘤的发生关系密切,尤其是小儿常见神经母细胞瘤形成以及生长过程;现就 PROK-1 蛋白与神经母细胞瘤的关系综述如下。

## 一、前动力蛋白(Prokineticins, PROKs)的定义及功能

1. PROK-1 和 PROK-2 的定义:1999 年有学者自 *Bombina variegata* 蛙的皮肤分泌物中发现一种分子量为 8Kda 的蛋白质,将其命名为 Bv8<sup>[6]</sup>。后来发现小鼠、大鼠、猴子和人类中均存在 Bv8 的同源蛋白,在哺乳动物中有两个同源蛋白命名为 PROK-1 和 PROK-2,这两个蛋白分别由两个基因编码 PROK1 和 PROK2,与 PROK 蛋白相对应的有两种相近的 G 蛋白偶联受体,PROK 受体 1(PKR1)和 PROK 受体 2(PKR2)<sup>[7]</sup>。PROK-1 是一种内分泌腺血管内皮细胞的促有丝分裂素,位于 1 号染色体的 p21 上,包含 3 个外显子(NCBI Gene ID:84432),又被称为内分泌腺衍生的血管内皮生长因子(endocrine gland vascular endothelial growth factor, EG-VEGF)。PROK-2 位于 3 号染色体 p13 上,包含 4 个外显子(NCBI Gene ID: 60675),又被称为 Bv8 (from *Bombina variegata* with a molecular mass  $\approx$  8 kDa)<sup>[8]</sup>。PROK-1 和 PROK-2 具有高度同源性,均包含由 10 个半胱氨酸残基形成的 5 个二硫键结构区域<sup>[9]</sup>。它们共享对其生物学效应至关重要的相同的氨基末端序列 AVITGA<sup>[10]</sup>;故将它们归为一个新发现的内

分泌蛋白家族,即 AVIT 蛋白家族,从已有的研究来看,AVIT 蛋白广泛分布于哺乳动物组织内。

2. PROK-1 和 PROK-2 的功能:PROK-1 最初是因介导消化系统肠道平滑肌收缩运动而被大家所熟识的,后来研究发现,PROK-1 主要在卵巢、睾丸、肾上腺、胎盘等类固醇腺体高度表达;而 PROK-2 主要在中枢神经系统和外周血白细胞内高度表达<sup>[11]</sup>。它们在不同组织中的分布及调节作用存在很大差异,并且显示出广泛的组织特异性生物效应。人类单核细胞高水平表达 PROK-2,而 PROK-1 几乎检测不到。Kupffer 细胞是肝内 PROK-2 的特异性来源,而 PROK-1 基本不表达<sup>[12]</sup>。2007 年,Ngan<sup>[11]</sup>等实验证明,PROK-1 在小鼠胚胎肠道神经嵴细胞发育过程中持续表达,作为肠道黏膜/间质细胞衍生因子维持肠道神经嵴细胞生存/增生、分化,但并不能诱导迁移;与此同时,LeCouter<sup>[13]</sup>等发现,骨髓中的 PROK-1 可以促进造血干细胞增生、分化及动员。

PROKs 是通过结合远端两个常见的 G 蛋白偶联受体 PKR1 (PROK-1 受体)和 PKR2 (PROK-2 受体)发挥其生物效应的。他们共享 85% 的氨基酸序列和共同的信号通路,但是否存在功能上的交叉尚不得而知<sup>[14]</sup>。PKR1 定位在染色体 2p13.1,广泛分布在外周组织中;PKR2 定位在染色体 20p12.3,是成人脑中的主要受体<sup>[15]</sup>。这些受体与其配体的结合是非特异性的,并且能够激活多种信号途径,如:有丝分裂原活化蛋白激酶途径(mitogen-activated protein kinase, MAPK),核因子活化 t-细胞途径(nuclear factor of activated t-cells, NFAT)等实现相应的生物学功能<sup>[14]</sup>。

3. 前动力蛋白与人类疾病的关系:近年来,越来越多的研究表明,PROKs 及其受体的异常表达与人类多种疾病和遗传综合症的生理病理发展密切相关。类风湿关节炎和克罗恩病患者组织内 PROK-1 的表达水平较正常组织明显提高<sup>[16]</sup>。在人类正常前列腺组织中,PROK-1 及其受体几乎不表达,而在前列腺恶性肿瘤组织中则高度表达<sup>[17]</sup>;将过度表达 PROK-1 的大肠癌细胞线植入裸鼠可诱导肿瘤形

成<sup>[18]</sup>;2011 年, Daniela<sup>[19]</sup> 等观察发现, 乳头状甲状腺癌进展期 PROK-1 水平明显升高, 而 PROK-2 的表达在正常甲状腺组织与恶性甲状腺组织之间则无明显差别。除此之外, PROK-1 所发出的异常信号与多囊卵巢综合症、睾丸癌、神经母细胞瘤的发生均高度相关<sup>[20,21]</sup>。因此, PROK-1 可能参与肿瘤形成。

## 二、前动力蛋白与神经母细胞瘤的关系

神经母细胞瘤是最常见的儿童颅外实体瘤, 来源于肾上腺或交感神经系统分化异常的神经嵴细胞。因此, 虽然其发生部位各不相同却又有一定的规律, 即都来源于肾上腺, 以及腹膜后和后纵隔的交感神经链处。目前, 神经母细胞瘤发生的病因及影响其发展的因素尚不完全清楚, 可能与染色体的异常以及癌基因的异常表达关系密切。

据统计, 90% 以上的神经母细胞瘤发生在肾上腺<sup>[2]</sup>。肾上腺正是 PROK-1 高水平表达的组织之一, PROK-1 通过结合 PKR1 和 PKR2 诱导肾上腺皮质毛细血管内皮细胞增生、血管生成和迁移。体外研究表明, 内皮细胞上 PKR1 活化导致细胞增生、迁移和血管形成; PKR2 活化导致有空的内皮细胞表型<sup>[22]</sup>。此外, PROK-1 也是介导肠神经嵴细胞生长和分化的一个关键因素。Ngan<sup>[11]</sup> 等发现, PROK-1 所发出的异常信号途径参与神经母细胞瘤的进展。首次证明了 PKR1 过度表达与神经母细胞瘤的进展密切相关。PKR1 表达水平与神经母细胞瘤所处阶段及转移情况有关, 而 PKR2 仅在进展期高度表达, 同时表明, PKR2 有保护肿瘤细胞免于凋亡的作用。PROK-1 可以诱导肿瘤的形成, 且在肾上腺中呈现高表达, 故推断其可能参与神经母细胞瘤的形成。

## 三、PROK-1 对神经母细胞瘤的生长有促进作用

对于肿瘤的发生和进展来讲, PROK-1 也是潜在的血管生成因子, 可能参与促进神经母细胞瘤进展和转移过程中的血管化。2009 年, Nebigil<sup>[23]</sup> 证明, 心肌细胞中 PKR1 活化或过度表达可促进细胞生存和血管生成, 减少心肌细胞的凋亡同时维持存活心肌细胞活力, 促进侧支血管形成。PROK-1 是类固醇源性腺体内皮细胞的高度特异性血管有丝分裂原, 通过与受体结合活化 MAPK 等信号途径刺激腺体衍生的内皮细胞增生、迁移和穿透<sup>[20]</sup>, 从而促进血管生成, 是肿瘤发展与转移过程的关键<sup>[24]</sup>。

众所周知, 恶性肿瘤是一种与活跃的血管生成密切相关的疾病, 其生长速度取决于癌组织内血管生成程度。血行转移包括 6 个步骤: (1) 原发肿瘤

内血管生成和细胞增殖; (2) 侵入临近组织; (3) 侵入血管; (4) 粘附到靶器官的血管内皮细胞; (5) 血管外迁移; (6) 转移性肿瘤内血管生成和细胞增殖<sup>[25]</sup>。其中, 促血管生成因子与抑制血管生成因子的平衡对于步骤(1)和(6)至关重要。血管生成包括: 血管内皮细胞活化、增生、迁移。一般由一些病理性因素, 如急性炎症、组织损伤诱导的血管生成是暂时的, 正向和负向调节因子适时被诱导、活化, 这一系列反应在新形成的血管分化和重塑后终止。与此不同的是, 恶性肿瘤内血管生成是没有重塑的不断复制, 从而促进肿瘤生长和转移<sup>[26]</sup>。数据表明, 仅有 4% 正常结肠黏膜临近组织表达 PROK-1, 而 31% 进展期原发结肠癌临近组织表达 PROK-1。相比 PROK-1 阴性表达, 它的阳性表达与浆膜浸润、血管侵入、淋巴结转移、腹膜转移、肝转移、血行转移及低生存率相关性更大<sup>[27]</sup>。除此之外, 抗 PROK-1 还能够成功抑制小鼠体内 PROK-1 诱导的血管生成和肿瘤生长。

综上所述, PROK-1 异常表达参与神经母细胞瘤的进展与转移, 不仅通过促进肿瘤细胞增生、迁移/浸润、抑制凋亡, 还包括增加血管生成, 所引起的超血管现象为肿瘤细胞提供了丰富的营养物质。不仅如此, PROK-1 也可作为判断肿瘤预后的参考因素和改善肿瘤生存率的治疗靶点。PKR1 和 PKR2 共同表达对 PROK-1 诱导的信号途径至关重要, 因此, 特异性破坏 PKR1 或 PKR2 都会导致 PROK-1 诱导的增殖和迁移过程完全取消。目前对 PROK-1 的机制尚不完全清楚, 仍需要进行大量前瞻性和回顾性的研究。

## 参考文献

- 1 Li M, Bullock CMI. Identification of two prokineticin cDNAs; recombinant proteins potently contract gastrointestinal smooth muscle[J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 59:692-698.
- 2 LeCouter J, Kowalski J, Foster J, et al. Identification of an angiogenic mitogen selective for endocrine gland endothelium [J]. *Nature*, 2001, 412:877-884.
- 3 LeCouter J, Zlot C, Tejada M, et al. Bv8 and endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor stimulate hematopoiesis and hematopoietic cell mobilization [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101:16813-16818.
- 4 Maldonado-Perez D, Evans J. Potential roles of the prokineticins in reproduction [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2007, 18(2):6-72.

- 5 Hu WP, Zhang C, Li JD, et al. Impaired pain sensation in mice lacking prokineticin 2[J]. *Mol Pain*,2006,2:35.
- 6 Mollay C, Wechselberger C, Mignogna G, et al. A small protein from frog skin and its homolog from snake venom induce hyperalgesia in rats[J]. *European Journal of Pharmacology*, 1999,374:189-196.
- 7 Soga T, Matsumoto S, Oda T, et al. Molecular cloning and characterization of prokineticin receptors[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*,2002,1579,173-179.
- 8 Abreu AP, Kaiser UB. The role of prokineticins in the pathogenesis of hypogonadotropic hypogonadism[J]. *Neuroendocrinology*,2010,91(4):283-290.
- 9 Bullock CM, Li JD, Zhou QY. Structural determinants required for the bioactivities of prokineticins and identification of prokineticin receptor antagonists [J]. *Mol Pharmacol*, 2004,65:582-588.
- 10 Kaser A, Winklmayr M. The AVIT protein family. Secreted cysteine-rich vertebrate proteins with diverse functions[J]. *EMBO Reports*,2003,4:469-473.
- 11 Ngan ES, Lee KY. Prokineticin-1 modulates proliferation and differentiation of enteric neural crest cells[J]. *Biochim Biophys Acta*,2007,1773(4):536-545.
- 12 Monnier J, Samson M. Cytokine properties of prokineticins [J]. *Febs Journal*,2008,275(16):4014-4021.
- 13 LeCouter J, Zlot C. Bv8 and endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor stimulate hematopoiesis and hematopoietic cell mobilization[J]. *Proc Acad Sci USA*, 2004,101(48):16813-16818.
- 14 Li QF, Zhu HY. Prokineticin-1/endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor is a survival factor for human multiple myeloma cells [J]. *Leuk Lymphoma*,2010,51(10):1902-1912.
- 15 Mounia Boulberdaa, Kyoji Urayama. Prokineticin receptor 1 (PKR1) signaling in cardiovascular and kidney functions [J]. *Cardiovascular Research*,2011,92:191-198.
- 16 Dorsch M, Qiu Y, Soler D, et al. PK1/EG-VEGF induces monocyte differentiation and activation[J]. *J Leukoc Biol*,2005,78(2):426-434.
- 17 Pasquali D, Rossi V. The endocrine-gland-derived vascular endothelial growth factor(EG-VEGF)/prokineticin 1 and 2 and receptor expression in human prostate: up-regulation of EG-VEGF/prokineticin 1 with malignancy[J]. *Endocrinology*,2006,147:4245-4251.
- 18 Goi T, Fujioka M. Angiogenesis and tumor proliferation/metastasis of human colorectal cancer cell line SW620 transfected with endocrine glands-derived-vascular endothelial growth factor, as a new angiogenic factor[J]. *Cancer Research*,2004,64(6):1906-1910.
- 19 Pasquali D, Santoro A. Upregulation of endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor in papillary thyroid cancers displaying infiltrative patterns, lymph node metastases, and BRAF mutation [J]. *Thyroid*,2011,21(4):391-399.
- 20 Ngan ES, Tam PK. Prokineticin-signaling pathway[J]. *Int J Biochem Cell Biol*,2008,40(9):1679-1684.
- 21 Maldonado-Perez D, Evans J. Potential roles of the prokineticins in reproduction [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2007,18:66-72.
- 22 Monnier J, Samson M. Prokineticins in angiogenesis and cancer[J]. *Cancer Lett*,2010,296(2):144-149.
- 23 Nebigil CG. Prokineticin Receptors in Cardiovascular Function: Foe or Friend? [J] *Trends in Cardiovascular Medicine*,2009,19(2):55-60.
- 24 Drozynska E, Izycka-Swieszewska E. A correlation of microvascular density and proliferative activity to clinical and histological characteristics in neuroblastoma[J]. *Neoplasma*,2006,53:247-252.
- 25 Fidler IJ, Ellis LM. The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis [J]. *Cell*, 1996,79:185-188.
- 26 Kumagai Y, Toi M, Inoue H. Dynamism of tumour vasculature in the early phase of cancer progression: Outcomes from oesophageal cancer research [J]. *Lancet Oncol*,2003,3:604-610.
- 27 Nagano H, Goi T. Endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor (EG-VEGF) expression in colorectal cancer[J]. *J Surg Oncol*,2007,96(7):605-610.