

# 波形蛋白诱导 EMT 在肿瘤侵袭转移中的研究进展

## Vimentin induced EMT the movers in tumor invasion and metastasis

付祎婷,程爱兰\*

FU Yiting, CHENG Ailan\*

(南华大学衡阳医学院肿瘤研究所,肿瘤细胞与分子病理学湖南省重点实验室,湖南 衡阳 421001)

**摘要:** 波形蛋白是中间纤维蛋白最主要的组成部分,它与微丝、微管共同组成细胞骨架,是上皮-间充质转化(EMT)的重要标志物。波形蛋白在许多上皮性来源的肿瘤中均出现异常表达,并与肿瘤的侵袭和转移密切相关。随着相关研究的不断深入,波形蛋白在肿瘤转移中的重要性开始凸显,其在恶性肿瘤中的高表达也越来越受到学者们的关注,这可能给肿瘤转移的治疗带来新思路。本文将对波形蛋白的结构、生物学功能,在各种肿瘤中的表达和功能及相关抗肿瘤药物研究进行综述。

**关键词:** 波形蛋白; 上皮-间充质转化(EMT); 恶性肿瘤; 侵袭; 转移

**Key words:** vimentin; epithelial-mesenchymal transformation (EMT); malignant tumor; invasive; metastasis

中图分类号:R-1,R730.231+.9

文献标识码:A

波形蛋白是中间纤维蛋白中最主要的一种,是连接细胞膜与细胞核之间重要的骨架蛋白,能够维持细胞骨架构象。最近的研究表明,波形蛋白不仅与肿瘤细胞的恶性程度密切相关,而且与肿瘤细胞的粘附、迁移、侵袭和细胞信号转导有关<sup>[1]</sup>,同时也是 EMT 的一种重要标志物。波形蛋白在上皮性来源的癌症组织中异常表达,例如前列腺癌、结肠癌、胰腺癌、皮肤鳞状细胞癌以及乳腺癌等,并参与肿瘤的发生发展过程,但其具体的作用机制尚不清楚。

## 1 波形蛋白的结构

波形蛋白(Vimentin)基因位于染色体 10p13, DNA 全长约 10kb, cDNA 全长 1848bp, 含 9 个外显子,开放读码框为 1401bp<sup>[2]</sup>,其基因序列具有高度保守性。波形蛋白属于 III 型中

间纤维蛋白,分子量约为 57 kD,由 466 个氨基酸残基组成。其主要由三个区域构成:头端的 N-末端结构域,含有  $\alpha$  螺旋区域的中心杆状结构域和尾部 C-末端结构域。中心杆状结构域包括由三个非螺旋连接体 L1、L12、L2 连接的四个螺旋段 1A、1B、2A、2B。其中  $\alpha$  螺旋组成的二聚体,由两个独立的

中心杆状结构域相互卷曲形成,它是波形蛋白的基本结构单元。N 端和 C 端结构域组成波形蛋白的侧支,其氨基酸序列具有多态性,且都存在磷酸化和糖基化靶点<sup>[3]</sup>。磷酸化使波形蛋白可以参与信号转导,并为其结构的形成和功能的产生提供动力。

## 2 波形蛋白的生物学功能

### 2.1 波形蛋白与细胞完整性

中间纤维是细胞骨架中最稳定的部分,主要起支撑作用。波形蛋白通常在间充质和间充质肿瘤细胞中表达,属于 III 型中间纤维蛋白,它与微丝、微管共同组成细胞骨架,进而形成细胞内完整的骨架体系。作为细胞骨架中的重要组成部分,波形蛋白为细胞内各个细胞器提供物理支架,从而维持细胞骨架构象与细胞形态和桥粒的完整性及可移动性。研究显示<sup>[4]</sup>,波形蛋白可以增强细胞的弹性和细胞质硬度,并有效稳定细胞质中细胞器所在的位置,具有张力和抗剪切力作用。在正常生理条件下,波形蛋白参与维持细胞的完整性;而在不同的病理条件下,波形蛋白具有复杂的生物学功能。

### 2.2 波形蛋白与 EMT

上皮细胞-间充质转化(Epithelial-mesenchymal transition, EMT)主要是指上皮细胞转化为间充质表型细胞的生物学过程。波形蛋白是该生物学过程中间充质细胞的标志物。研究表明,波形蛋白在许

收稿日期:2018-10-16;修回日期:2018-12-07

基金项目:国家自然科学基金(编号:81372894)。

\* 通信作者, E-mail:375355191@qq.com.

多病理过程中均出现异常表达,如炎症、肿瘤发生和侵袭转移等过程,并可诱导上皮间充质的转化。当 EMT 发生时,波形蛋白在上皮细胞中高度表达,细胞表型发生改变,细胞逐渐丧失上皮细胞表型,如 E-钙黏蛋白、细胞骨架角蛋白表达减少;并获得间充质细胞表型,如波形蛋白、纤维连接蛋白、N-钙黏蛋白表达增多。上皮细胞的形态也从紧密连接的铺路石样状态,转变为狭长的纤维细胞样。其折光性增强,极性增加,细胞间连接变得松散,具有间充质细胞样特性。同时,EMT 的表型变化也受表皮生长因子受体、Wnt 和丝裂原活化蛋白激酶等信号通路的调控<sup>[5]</sup>;而且这些过程受到波形蛋白缺失的抑制。大量研究表明 EMT 参与肿瘤细胞的侵袭迁移过程,并与肿瘤细胞远处转移等恶性生物学表型密切相关,波形蛋白作为 EMT 的重要标志物,能够使上皮细胞失去极性、减弱粘附力、增加运动能力等,从而破坏细胞的紧密连接结构,改变细胞骨架的结构,促进细胞的运动和迁移,增加肿瘤细胞的侵袭性和远处转移能力<sup>[6]</sup>。

### 3 波形蛋白在肿瘤侵袭转移中的意义

#### 3.1 波形蛋白与结肠癌侵袭转移

波形蛋白主要在结肠癌组织的细胞质和细胞核中表达。研究表明,波形蛋白在结肠癌组织中的表达显著高于相应的癌旁组织,并且与 TNM 分期和淋巴结转移密切相关<sup>[7]</sup>。其中,波形蛋白的表达在 III、IV 期的结肠癌中明显高于 I、II 期的结肠癌,与没有发生淋巴结转移的结肠癌相比较,波形蛋白在发生淋巴结转移的结肠癌中也显著高表达。然而,在敲除波形蛋白基因后,肿瘤细胞的侵袭、转移能力显著降低。此外,在结肠癌的早期发展过程中,经常可以见到基因的甲基化过程。并且已在结肠癌中检测到波形蛋白的甲基化作用,其中粪便中波形蛋白甲基化的检测用来诊断结肠癌的敏感性高达 81%。但是波形蛋白的甲基化作用在胃癌、食管癌以及胰腺癌等癌症中均能检测到,故波形蛋白甲基化的检测是否能够作为结肠癌的筛查指标还需要进一步研究。综上,波形蛋白可能在结肠癌的发生发展与转移过程中起重要作用。

#### 3.2 波形蛋白与乳腺癌侵袭转移

乳腺癌可分为乳腺基底样癌、Luminal A 型、Luminal B 型和 HER-2 过表达型这四种类型,其中乳腺基底样癌约占所有乳腺癌的 13%。在这四种类型中乳腺基底样癌最受肿瘤学家和病理学家关注。

与其他乳腺癌亚型相比较,它具有更高的侵袭性,而且缺乏 ER、PR 和 HER2 等靶向治疗的靶点,导致患者的临床预后不良<sup>[8]</sup>。研究表明<sup>[9]</sup>,乳腺癌与癌旁乳腺组织相比较,波形蛋白的表达明显升高,并且随着乳腺癌的转变进展,波形蛋白的表达也逐渐增强。波形蛋白在乳腺基底样癌中的表达明显高于其他类型乳腺癌,波形蛋白的高表达可以增加肿瘤的侵袭性,并与临床分期及淋巴结转移密切相关。研究中发现<sup>[10]</sup>,乳腺癌中的 EMT 标志物:波形蛋白、SMA、N-钙黏蛋白、钙黏蛋白-11 等表达增加,上皮性标志物:E-钙黏蛋白、细胞骨架角蛋白等表达降低;将波形蛋白的 cDNA 导入乳腺癌细胞系 MCF-7 后发现紧密抱团生长的细胞开始向外扩散,24 小时后仅有 9% 的细胞仍然保留在细胞团块周围,这表明波形蛋白可以促进细胞的迁移能力。提示波形蛋白可能通过 EMT 机制降低乳腺癌细胞之间的粘附能力,从而促使乳腺癌细胞发生侵袭和转移。

#### 3.3 波形蛋白与肝癌侵袭转移

研究证明,波形蛋白在肝癌组织中的表达显著高于癌旁组织。并且波形蛋白与丙肝病毒能够在体内产生相互作用,而丙肝病毒的感染是导致肝癌的重要因素之一。在肝癌细胞中丙肝病毒核心蛋白的表达受波形蛋白含量影响,同时丙肝病毒核心蛋白也可通过上调波形蛋白、snail、snail2 等间充质蛋白的表达,诱导肝细胞与肝癌细胞发生 EMT,从而刺激细胞的增殖,增加细胞的迁移能力,敲除波形蛋白基因后肝癌细胞的迁移能力明显减弱。肝癌的侵袭和转移是一个非常复杂的生物学过程,但最重要的是癌细胞之间的黏附力降低,细胞结构损坏,癌细胞向远处扩散并形成新生血管等<sup>[11]</sup>。大量研究发现,肝癌细胞中波形蛋白异常表达与 EMT 有关,它能够使上皮细胞获得间充质细胞表型,丧失上皮细胞极性和与基底膜的连接,迁移侵袭能力增强,使肿瘤细胞更易发生浸润性生长,更易随血运行并形成转移灶<sup>[12]</sup>。患者生存分析结果还表明,波形蛋白表达越高,患者早期复发越早,生存时间越短,预后也越差。由此提示肝癌细胞发生 EMT 时侵袭转移能力增强,而其中波形蛋白也可能为肝癌的临床诊断与判断预后提供分子标记。

#### 3.4 波形蛋白与其他癌症侵袭转移

许多其他癌症的发生发展也与波形蛋白表达水平密切相关。研究表明,波形蛋白在胃癌组织细胞中的表达显著增高,特别是在分化较差和发生远处转移的胃癌患者中。由此可推测波形蛋白可能在胃癌的分化和转移中起重要作用。波形蛋白在

宫颈癌组织中的表达高于正常的宫颈组织,并且波形蛋白的表达水平随着宫颈病变的进展而不断增加。研究发现<sup>[13]</sup>,波形蛋白的表达还与宫颈癌的淋巴结转移和临床分期密切相关。患者 5 年生存率显示,波形蛋白高表达的宫颈癌患者预后最差,阴性表达的患者预后较好。这提示波形蛋白可用作宫颈癌患者预后的预测指标。在神经胶质瘤的患者中,波形蛋白低表达患者的生存能力也高于波形蛋白高表达的患者。研究还证实<sup>[14]</sup>,波形蛋白可以增加肿瘤细胞的侵袭力,并可作为胶质瘤的独立预后因子。研究表明,鼻咽癌患者中存在波形蛋白的异常表达,并且波形蛋白过表达的鼻咽癌患者预后较差。原发性和复发性鼻咽癌的实验对比也表明,复发性鼻咽癌中的波形蛋白水平高于原发性鼻咽癌。通过沉默波形蛋白在鼻咽癌细胞中的表达,可以抑制肿瘤细胞侵袭和迁移的能力。说明波形蛋白不仅可以作为鼻咽癌复发的检测标志,也可能通过沉默波形蛋白的表达从而达到治疗鼻咽癌转移的目的。波形蛋白在肺癌组织中的阳性率也增加,癌组织中波形蛋白 mRNA 显著高于癌旁组织。但波形蛋白与性别、年龄和吸烟等因素之间没有显著相关性。波形蛋白的高表达可导致细胞发生 EMT,并且与非小细胞肺癌的预后不良相关。这表明波形蛋白在肺癌的发生和侵袭过程中起重要作用。研究证实胰腺癌中存在波形蛋白的异常表达,通过稳定转染技术,下调波形蛋白在胰腺癌细胞中的水平后,细胞侵袭和运动能力降低,细胞外基质的成分粘附能力也降低。但波形蛋白对如 E-钙黏蛋白和 N-钙黏蛋白等其他 EMT 指标的影响不大。波形蛋白的下调使 F-actin 聚集减少并出现结构解体的现象,虽然对整合素家族与黏着激酶蛋白的表达无显著影响,但波形蛋白可促使黏着斑激酶发生重排。提示波形蛋白可能通过改变细胞骨架及相关蛋白的结构从而促进胰腺癌细胞的侵袭转移和粘附能力,而并非通过 EMT 过程。因此,可以推测波形蛋白在胰腺癌侵袭和转移中起重要作用,其表达的高低可成为预测胰腺癌术后生存期的独立因素同时波形蛋白表达的下调可以抑制胰腺癌细胞的侵袭转移,预计它将成为抗肿瘤治疗的新靶点。高侵袭性前列腺癌细胞中的波形蛋白表达量比低侵袭性前列腺癌细胞高 20 倍,并且与临床分期、Gleason 评分和患者生存率相关。因此,可以通过检测波形蛋白的表达来评估前列腺癌恶性程度及预后。在实验中<sup>[15]</sup>,还发现下调波形蛋白后能抑制肿瘤细胞的侵袭能力,而将波形蛋白转入前列腺癌细

胞中后,发现其能促进肿瘤细胞的侵袭和转移。

#### 4 小结与展望

波形蛋白具有复杂的生物学功能,对肿瘤的发生发展有重要作用,与肿瘤的不良预后相关,可能成为肿瘤检测的一大指标。波形蛋白的表达大多与 EMT 过程相关,并通过 EMT 促进肿瘤的侵袭转移,但也存在通过改变细胞骨架与相关蛋白的结构从而增加细胞的迁移能力,从而促进与致癌基因相关的致癌事件的发生。波形蛋白虽然参与自身免疫与肿瘤侵袭转移等病理过程,但其具体的作用机制与疾病的关系有待进一步探索。所以,深入研究波形蛋白在各种癌症发生发展中的分子机制,以及临床诊断、预后判断和肿瘤靶向治疗具有重要意义。未来有望成为抗肿瘤治疗靶点的新目标。

#### 参考文献:

- [1] LIM J, THIERY JP. Epithelial-mesenchymal transitions: insights from development[J]. *Development*, 2012,139(19):3471-86.
- [2] 陈卓,方成. 波形蛋白在细胞内外的不同功能与相关病理[J]. *中国免疫学杂志*, 2016(3):436-9.
- [3] CHERNYATINA AA, NICOLET S, AEBI U, et al. Atomic structure of the vimentin central alpha-helical domain and its implications for intermediate filament assembly[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012,109(34):13620-5.
- [4] GUO M, EHRLICHER AJ, MAHAMMAD S, et al. The role of vimentin intermediate filaments in cortical and cytoplasmic mechanics[J]. *Biophys J*, 2013,105(7):1562-8.
- [5] YU S, YAN C, YANG X, et al. Pharmacoproteomic analysis reveals that metapristone (RU486 metabolite) intervenes E-cadherin and vimentin to realize cancer metastasis chemoprevention[J]. *Sci Rep*, 2016,6:22388.
- [6] 向姝霖,刘芳,夏红,等. 二烯丙基二硫下调 $\beta$ -catenin 抑制人胃癌 MGC803 细胞 EMT[J]. *中南医学科学杂志*, 2015,43(5):487-92.
- [7] DU L, LI J, LEI L, et al. High vimentin expression predicts a poor prognosis and progression in colorectal cancer: a study with meta-analysis and TCGA database[J]. *Biomed Res Int*, 2018:6387810.
- [8] LU R, ZHOU Z, YU W, et al. CPEB4 promotes cell migration and invasion via upregulating Vimentin expression in breast cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017,489(2):135-41.
- [9] LOU L, YU Z, WANG Y, et al. c-Src inhibitor selectively inhibits triple-negative breast cancer overexpressed Vimentin in vitro and in vivo[J]. *Cancer Sci*, 2018,109(5):1648-59.
- [10] LIU Y, WANG JX, HUANG D, et al. PMLIV overexpression promotes TGF-beta-associated epithelial-mesenchymal transition and migration in MCF-7 cancer cells[J]. *J Cell Physiol*, 2018.

(下转第 94 页)

已证实 SOCS3 负性调节 STAT3 的表达。最近一项<sup>[21]</sup>关于 MBD2 通过 SOCS3 调控 Th17 细胞分化参与重症哮喘发病机制的研究表明,在体外将 SOCS3 siRNA 病毒转染重症哮喘小鼠 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞,SOCS3 siRNA 干预后 STAT3 的转录保持不变,但 STAT3 磷酸化显著增加,随着 STAT3 磷酸化的变化,调节 Th17 分化的主要转录因子 ROR $\gamma$ t 显著增加,而 IL-17 及 Th17 细胞亦明显增加,表明 SOCS3 可能通过调节 STAT3 磷酸化抑制 Th17 细胞分化而参与重症哮喘的发病。SOCS3 基因治疗可能是免疫治疗以中性粒细胞性气道炎症为主的重症哮喘的潜在途径,期待更多的关于这方面的基础及临床研究。

#### 参考文献:

- [1] CHUNG KF, WENZEL SE, BROZEK JL, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma [J]. *Eur Respir J*, 2014, 43(2): 343-73.
- [2] LUSKIN AT, CHIPPS BE, RASOULYAN L, et al. Impact of asthma exacerbations and asthma triggers on asthma-related quality of life in patients with severe or difficult-to-treat asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2014, 2(5): 544-5.
- [3] KRISHNAMOORTHY N, DOUDA DN, BRUGGEMANN TR, et al. Neutrophil cytoplasts induce Th17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma [J]. *Sci Immunol*, 2018; aao4747.
- [4] 孟惜,张秀峰. MBD2 和 SOCS3 调控 Th17 细胞与重症哮喘发病机制[J]. *中南医学科学杂志*, 2018, 46(1): 102-4.
- [5] CHEN S, HAN Y, CHEN H, et al. Bcl11b regulates IL-17 through the TGF- $\beta$ /Smad pathway in HDM-Induced asthma [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2018, 10(5): 543-54.
- [6] NEWCOMB DC. Th17-mediated inflammation in asthma [J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(6): 755-60.
- [7] LIN XL, LV JJ, LV J, et al. Heme oxygenase-1 directly binds STAT3 to control the generation of pathogenic Th17 cells during neutrophilic airway inflammation [J]. *Allergy*, 2017, 72(12): 1972-87.
- [8] CHAUDHRY A, RURDA D, TREUTING P, et al. CD4<sup>+</sup> regula-

tory T cells control TH17 responses in a Stat3-dependent manner [J]. *Science*, 2009, 326(5955): 986-91.

- [9] AUGUST A. Who regulates whom; ZNF341 is an additional player in the STAT3/Th17 song [J]. *Sci Immunol*, 2018; aat9779.
- [10] KELES S, CHARBONNIER LM, KABALEESWARAN V, et al. Deducator of cytokinesis 8 regulates signal transducer and activator of transcription 3 activation and promotes TH17 cell differentiation [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138(5): 1384-94.
- [11] YOSHIMURA A. JAK's SOCS: a mechanism of inhibition [J]. *Immunity*, 2012, 36(2): 157-9.
- [12] DUNCAN SA, BAGANIZI DR, SAHU R, et al. SOCS3 proteins as regulators of inflammatory responses induced by bacterial infections: a review [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2431.
- [13] OSUKA K, USUDA N, AOYAMA M, et al. Expression of the JAK/STAT3/SOCS3 signaling pathway in herniated lumbar discs [J]. *Neurosci Lett*, 2014, 569: 55-8.
- [14] PARK KW, NOZELL SE. Protective role of STAT3 in NMDA and glutamate-induced neuronal death: negative regulatory effect of SOCS3 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e50874.
- [15] DUAN WN, XIA ZY, LIU M, et al. Protective effects of SOCS3 overexpression in high glucose-induced lung epithelial cell injury through the JAK2/STAT3 pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(3): 2668-74.
- [16] BAKER BJ, AKHTAR LN. SOCS1 and SOCS3 in the control of CNS immunity [J]. *Trends Immunol*, 2009, 30(8): 392-400.
- [17] CHEN Z, LAURENCE A, KANNO Y, et al. Selective regulatory function of Socs3 in the formation of IL-17-secreting T cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(21): 8137-42.
- [18] VEGRAN F, BERGER H, GHIRINGHELLI F. Socs3 induction by PPAR $\gamma$  restrains cancer-promoting inflammation [J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(14): 2157-8.
- [19] FANG S, LIU B, SUN Q, et al. Platelet factor 4 inhibits IL-17/Stat3 pathway via upregulation of SOCS3 expression in melanoma [J]. *Inflammation*, 2014, 37(5): 1744-50.
- [20] KOU W, HU GH, YAO HB, et al. Transforming growth factor- $\beta$ 1 promotes Treg commitment in nasal polyposis after intranasal steroid treatment [J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(3): 283-9.
- [21] SUN W, XIAO B, JIA A, et al. MBD2-mediated Th17 differentiation in severe asthma is associated with impaired SOCS3 expression [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 371(1): 196-204.

(本文编辑:蒋湘莲)

(上接第 91 页)

- [11] MENG J, CHEN S, HAN J, et al. Twist1 regulates Vimentin through Cul2 circular RNA to promote EMT in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2018.
- [12] NISHIYAMA M, TSUNEDOMI R, YOSHIMURA K, et al. Metastatic ability and the epithelial-mesenchymal transition in induced cancer stem-like hepatoma cells [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(4): 1101-9.
- [13] COIMBRA EC, DA CGLM, JUNIOR MR, et al. Expression profile of microRNA-203 and its deltaNp63 target in cervical carcino-

genesis: prospects for cervical cancer screening [J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(8): 3939-46.

- [14] LIN L, WANG G, MING J, et al. Analysis of expression and prognostic significance of vimentin and the response to temozolomide in glioma patients [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(11): 15333-9.
- [15] SATELLI A, BATTI I, BROWNLEE Z, et al. EMT circulating tumor cells detected by cell-surface vimentin are associated with prostate cancer progression [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30): 49329-37.

(本文编辑:蒋湘莲)