

神经节苷脂-3(GM3)与膀胱癌的相关性研究进展

Research Progress in the Correlation Between Ganglioside and Bladder Cancer
WANG Hua, LI De-chuan

王 华, 李德川
(浙江省肿瘤医院, 浙江 杭州 310022)

摘要:神经节苷脂在细胞与细胞、细胞与细胞外基质之间的相互作用以及信号转导中起着关键性作用。研究表明神经节苷脂-3(GM3)与膀胱癌的恶性转化、浸润及转移等密切相关。全文就 GM3 在膀胱癌中的作用及其分子机制作一综述。

关键词:膀胱癌;神经节苷脂-3;糖链

中图分类号:R737.14 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2012)11-0836-04

膀胱癌是男性泌尿生殖系肿瘤中常见的恶性肿瘤,按照其生长方式和预后通常分为预后相对良好的非肌层浸润性膀胱癌和预后较差的肌层浸润性膀胱癌两种类型。传统的组织病理学方法包括细胞分级、肿瘤分期并不能精确估计膀胱癌的生物学行为。近年来,随着人们对细胞周期、细胞间相互作用的深入了解以及诊断技术的不断提高,在膀胱癌的危险因素以及预后预测方面取得了一些进展。可以利用这些信息对膀胱癌患者进行个体化的治疗,即对于容易进展的膀胱癌采用更加积极的治疗方法,而对于一些不大容易进展的膀胱癌则采用相对缓和的治疗方法以避免过度治疗,同时,也可利用这些信息开发膀胱癌的新疗法^[1]。

细胞癌变以及肿瘤的恶性程度和侵袭性与许多细胞生物分子,如糖链的结构或功能的异常有关^[2]。细胞膜存在许多复杂的糖链,在细胞与细胞、细胞与外界之间的相互作用以及信号转导中起着关键性的作用^[3],它们与细胞增殖、运动、分化以及肿瘤浸润密切相关^[4],糖链大多以糖蛋白、蛋白多糖及糖脂形式存在。糖脂包括甘油糖脂、糖鞘脂、脂多糖。糖鞘脂

有脑苷脂(cerebroside)和神经节苷脂(ganglioside),其中神经节苷脂-3(GM3)与膀胱癌进展、浸润和转移的相关性研究较多。本文综述 GM3 与膀胱癌的相关性研究进展。

1 神经节苷脂-3(GM3)的结构

糖脂即糖和脂质结合所形成的物质的总称,在生物体分布甚广,但含量较少,仅占脂质总量的一小部分。糖脂是细胞膜的重要成分,包括甘油糖脂、鞘糖脂、脂多糖等。糖鞘脂(glycosphingolipids)分子母体结构是神经酰胺,脂肪酸连接在长链鞘氨醇的 C-2 氨基上,构成的神经酰胺糖类是糖鞘脂的亲水极性头,含有一个或多个中性糖残基作为极性头的糖鞘脂类称为中性糖鞘脂或糖基神经酰胺,其极性头带电荷。

糖鞘脂合成的第一个步骤是在酶的作用下葡萄糖与鞘氨醇连接,进一步连接半乳糖。糖鞘脂进一步分为以下几个系列:球(globo-)系列,乳(lacto-)系列,节(ganglio-)系列。每个系列内还分成若干小的类群。

重要的糖鞘脂有脑苷脂(cerebroside)和神经节苷脂(ganglioside)。神经节苷脂分子由半乳糖(Gal)、N-乙酰半乳糖(GalNAc)、葡萄糖(Glc)、N-脂酰鞘氨

收稿日期:2012-08-02;修回日期:2012-10-24
基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2009B030)
通讯作者:王华,Email:hwangua@yahoo.com.cn

醇(Cer)、唾液酸(NeuAc)组成。神经节苷脂广泛分布于全身各组织的细胞膜的外表面,以脑组织最丰富。神经节苷脂是含有唾液酸的酸性糖鞘脂,最简单的神经节苷脂是 GM3,它包含鞘氨醇、一分子葡萄糖、一分子半乳糖和一分子唾液酸。更加复杂的神经节苷脂包括 GM2、GM1。

2 GM3 对膀胱癌生物学行为的影响

细胞膜表面碳水化合物的表达在正常组织和肿瘤组织中截然不同,与肿瘤相关的某些碳水化合物被称作异常的糖链,它们与肿瘤的分期、进展、浸润和转移密切相关。但是这些特定的糖链所发挥的重要作用在临床肿瘤学领域还没能得到正确的认识^[5]。

膀胱癌通常分为非肌层浸润性和肌层浸润性两个类型,这两种类型的肿瘤在生长方式、生物学行为和患者预后截然不同,但传统的组织病理学方法不能精确地估计膀胱癌的生物学行为及患者的预后,有研究者采用分子手段以寻求膀胱癌预后预测因子,膀胱癌糖分子生物学是其中的研究热点之一。研究表明,神经节苷脂在细胞生长、细胞间信息传递及信号转导中起着关键性作用,其表达模式与肿瘤的分期、浸润和转移相关^[6,7]。Kawamura 等^[8]检测膀胱癌患者肿瘤组织中神经节苷脂-3(GM3)的表达,结果表明:6 例非肌层浸润性膀胱癌患者肿瘤组织中均高表达 GM3,而 8 例肌层浸润性膀胱癌组织中均低表达或不表达 GM3,显示了非肌层浸润性膀胱癌与肌层浸润性膀胱癌其 GM3 的表达模式截然不同;该研究同时测定了肿瘤组织中 GM3 合成酶的基因,结果表明非肌层浸润性膀胱癌肿瘤组织中 GM3 合成酶的活性要高于肌层浸润性膀胱癌肿瘤组织,同时,膀胱癌细胞株加入 GM3 后抑制了细胞的浸润能力,这些结果揭示了 GM3 在膀胱癌中的重要作用。基于这一研究结果,Watanabe 等^[9]进一步探讨了 GM3 对膀胱癌生物学行为的影响,他们采用基因转染的方法,将 GM3 合成酶的 cDNA 转入小鼠膀胱癌细胞株 MBT-2,从而上调 MBT-2 细胞 GM3 的表达,结果细胞生长、运动和浸润能力下降,同样,MBT-2 细胞转入 GM3 合成酶的 cDNA 后,小鼠皮下肿瘤生长也受到显著抑制($P<0.001$),这些结果说明采用基因手段上调膀胱癌中 GM3 的表达为膀胱癌的基因治疗提

供了新的线索。Sato 等^[10]探讨 GM3 对膀胱癌细胞株生物学行为的影响,使用 brefeldin A(BFA)处理膀胱癌细胞株使其 GM3 表达增加,结果受处理的细胞浸润能力明显下降($P<0.0005$),证实了 GM3 在膀胱癌浸润中的抑制作用。Ohyama 等^[11]用缺乏 GM3 表达的小鼠膀胱癌细胞株建立皮下肿瘤模型,瘤内注射外源性 GM3 可抑制皮下肿瘤生长,揭示了 GM3 在膀胱癌生长抑制中所发挥的作用,也为膀胱癌的治疗提供了新的思路。非肌层浸润性膀胱癌细胞株 KK47 自身高表达 GM3,如果下调其 GM3 的表达,则细胞的浸润及运动能力增强,类似于肌层浸润性膀胱癌细胞株 YTS-1,相反,YTS-1 自身不表达 GM3,如果在培养基中加入外源性 GM3 处理后,则细胞的浸润及运动能力下降,类似于 KK47,由此可见,GM3 在细胞恶性转化中发挥着重要作用^[12]。研究显示 GM3 在 GM2 存在的条件下能发挥更好的作用,即 GM2/GM3 复合物对膀胱癌细胞株运动能力的抑制作用更加明显^[13]。最近,我们探讨了外源性 GM3 对人膀胱癌细胞株的生长抑制效果及对小鼠肿瘤的治疗效果,结果显示:外源性 GM3 抑制了膀胱癌细胞株的生长、黏附及上皮生长因子受体磷酸化,膀胱内灌注 GM3 显著抑制了小鼠原位膀胱肿瘤的生长,GM3 治疗组和对照组小鼠膀胱肿瘤的重量分别为 $(19.8\pm 3.09)\text{mg}$ 、 $(151.5\pm 38.9)\text{mg}$ ($P<0.0001$)^[14]。

3 GM3 在膀胱癌中的作用及其分子机制

神经节苷脂-3(GM3)与膀胱癌的生物学行为及预后密切相关,但其确切的作用机制尚不十分明确。研究表明,神经节苷脂在调节细胞黏附、信号转导中起着关键性作用^[15]。细胞膜表面的神经节苷脂与整合素、生长因子受体、四次跨膜蛋白(tetraspanins, TSP)等在细胞膜微区(microdomain)相互结合,形成复合物糖突触(glycosynapse),来控制细胞黏附、生长和运动^[16,17]。糖突触调节细胞信号转导是通过碳水化合物相互结合作用而实现的。

GM3 抑制肿瘤细胞生长的机制有许多报道,大多数研究认为 GM3 通过与上皮生长因子受体(EGFR)结合抑制细胞 EGFR 酪氨酸激酶活化,从而发挥抑制细胞生长的作用^[18]。进一步的研究显示

GM3 抑制 EGFR 酪氨酸激酶是通过 GM3 与 EGFR 上的 N-乙酰氨基葡萄糖残端结合而实现的^[19]。

另一方面,GM3 还与细胞膜其它分子相互作用调节细胞功能。GM3 与四次跨膜蛋白(TSP)共同存在于细胞膜微区并与整合素结合调节细胞运动,GM3 对细胞功能的调节作用被认为与 TSP CD9 的功能有关,CD9 抑制细胞的运动能力,而只有 GM3 与 CD9 共同存在并形成 GM3/TSP CD9 复合物才能抑制细胞运动和增殖^[20]。另外,GM3/CD9 复合物还可以抑制整合素 $\alpha 3$ 、 $\alpha 5$ 、 $\beta 1$ 的水平,如果细胞丧失 GM3/CD9 复合物,就会激活整合素依赖性的信号途径从而增强细胞的运动能力,这些结果表明 GM3/CD9 复合物可以抑制整合素的活性和整合素依赖性的信号转导^[21]。研究表明,下调膀胱癌细胞株 GM3 的表达后,CD9 与整合素 $\alpha 3\beta 1$ 的结合受到抑制,导致了细胞运动能力和浸润能力的增强,同样,下调细胞 CD9 的表达,细胞恶性程度也会增强,这些结果显示整合素/CD9/GM3 形成的复合体可抑制细胞浸润^[12]。肌层非浸润性膀胱癌细胞株 KK47 高表达 GM3/CD9 复合物,从而显示出了较低运动能力;相反,高度恶性肌层浸润性膀胱癌细胞株 YTS-1 缺乏 GM3/CD9 复合物,显示了较强的运动能力^[10,12]。这些结果在一定程度上揭示了 GM3/CD9 与膀胱癌生物学行为的相关性。另外,非肌层浸润性膀胱癌细胞株 KK47 和肌层浸润性膀胱癌细胞株 YTS-1 都表达 CD9 和整合素 $\alpha 3\beta 1$,而 GM3 表达不同导致两个细胞株生物学行为截然不同,YTS-1 经外源性 GM3 处理后其生物学行为与 KK47 相似,表明了抑制癌细胞运动能力方面,GM3 和 CD9 缺一不可。GM3 还通过调节 cSrc 的活性调控细胞的浸润和运动能力,研究表明,细胞低表达 GM3 会激活 cSrc,而高表达 GM3 导致 C 末端 Src 激酶(C-terminal Src kinase, Csk)转移至糖突触膜质微区,从而抑制了 cSrc 的活性,结果降低了细胞的运动能力^[12]。

另外有研究表明,GM3 可与 GM2 形成复合物对 TSP CD82 依赖的细胞运动和生长发挥着重要的抑制作用^[21]。CD82 被认为是转移抑制基因 Kal-1 的产物,在正常上皮细胞中高表达^[13]。CD82 可以抑制肝细胞生长因子(HGF)作用下的 Met 酪氨酸激酶的活性^[22],Met 被认为可促进癌细胞的运动和浸润^[23]。而 GM2 与 CD82 形成的复合物可与 Met 结合,抑制

整合素 $\alpha 3$ 或 $\beta 1$ 与 Met 的结合,从而明显抑制了 HGF 作用下的 Met 酪氨酸磷酸化^[24]。正常人膀胱黏膜来源细胞株 HCV29 存在 GM2/CD82 复合物,如果消除细胞 GM2 的表达或下调 CD82 表达,则细胞的运动能力增强。相反,高度恶性的膀胱癌细胞株 YTS-1(缺乏 CD82)上调 CD82 的表达其 Met 活性和细胞运动能力下降^[24]。这些结果表明:尽管 GM3 是与 CD9 特异性结合,而不是与 CD82 结合,但 GM3 的存在会促进 GM2 与 CD82 的结合,从而形成强大的 GM2/GM3/CD82 复合体抑制 HGF 作用下的 Met 激活,通过信号转导来控制细胞的运动和浸润^[13]。

4 问题与展望

细胞膜糖脂在肿瘤的发生与发展中起着关键性作用。肿瘤的恶性转化并非是由某个特定的分子或肿瘤特异性的基因决定的,而是由细胞膜上的糖突触决定的。糖突触通过影响细胞的黏附、浸润和运动来改变肿瘤的生物行为,改变糖突触的功能将会为膀胱癌的治疗提供新的思路。但是,现有的方法还不能完全分辨出不同的糖突触微区各种成分之间的相互作用,这些问题随着生物物理学的进展有望得到解决。细胞膜糖链在调节细胞间的相互识别、细胞间的结合以及信号转导中的作用取得了一定的研究进展,但细胞膜碳水化合物与蛋白质的结合、对蛋白质的修饰作用以及碳水化合物之间的相互作用知之甚少。各个糖基转移酶的基因以及涉及糖基转移酶表达的转录调控因子等内容还需要进一步研究,通过基因的手段改变细胞膜糖链结构以及糖脂的表达模式,从而改变细胞的生物学行为,将为肿瘤的基因治疗提供依据。

参考文献:

- [1] Esrig D, Elmajian D, Groshen S, et al. Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer[J]. N Engl J Med, 1994, 331(19):1259-1264.
- [2] Utkina N, Yoon S, Hakomori S. Glycosyl conjugates of biotinylated diaminopyridine applied for study of carbohydrate-to-carbohydrate interaction [J]. Glycoconj J, 2010, 27(6):601-611.
- [3] Guan F, Handa K, Hakomori S. Specific glycosphingolipids mediate epithelial-to-mesenchymal transition of

- human and mouse epithelial cell lines [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(18):7461–7466.
- [4] Todeschini AR, Hakomori S. Functional role of glycosphingolipids and gangliosides in control of cell adhesion, motility, and growth, through glycosynaptic microdomains [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1780(3):421–433.
- [5] Handa K, Hakomori SI. Carbohydrate to carbohydrate interaction in development process and cancer progression [J]. *Glycoconi J*, 2012, 29(8–9): 627–637.
- [6] Park S, Yoon S, Freire-de-Lima L, et al. Control of cell motility by interaction of gangliosides, tetraspanins, and epidermal growth factor receptor in A431 versus KB epidermoid tumor cells [J]. *Carbohydr Res*, 2009, 344(12): 1479–1486.
- [7] Hakomori SI. Glycosynaptic microdomains controlling tumor cell phenotype through alteration of cell growth, adhesion, and motility [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(9):1901–1906.
- [8] Kawamura S, Ohyama C, Watanabe R, et al. Glycolipid composition in bladder tumor: a crucial role of GM3 ganglioside in tumor invasion [J]. *Int J Cancer*, 2001, 94(3):343–347.
- [9] Watanabe R, Ohyama C, Aoki H, et al. Ganglioside (GM3) overexpression induces apoptosis and reduces malignant potential in murine bladder cancer [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(13):3850–3854.
- [10] Satoh M, Ito A, Nojiri H, et al. Enhanced GM3 expression, associated with decreased invasiveness, is induced by brefeldin A in bladder cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2001, 19(4):723–731.
- [11] Ohyama C, Kawamura S, Suzuki K, et al. GM3 inhibits murine MBT-2 tumor invasion and growth [J]. *Int J Oncol*, 1996, 8(4):809–813.
- [12] Mitsuzuka K, Handa K, Satoh M, et al. A specific microdomain (“Glycosynapse 3”) controls phenotypic conversion and reversion of bladder cancer cells through GM3-mediated interaction of $\alpha 3\beta 1$ integrin with CD9 [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(42): 35545–35553.
- [13] Todeschini A, Dos Santos J, Handa K, et al. Ganglioside GM2/GM3 complex affixed on silica nanospheres strongly inhibits cell motility through CD82/cMet-mediated pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(6):1925–1930.
- [14] Wang H, Isaji T, Satoh M, et al. Anti-tumor effects of exogenous ganglioside GM3 on bladder cancer in an orthotopic cancer model [J]. *Urology*, Published online 25 October 2012.
- [15] Haga Y, Hatanaka K, Hakomori S. Effect of lipid mimetics of GM3 and lyso-GM3 dimer on EGF receptor tyrosine kinase and EGF-induced signal transduction [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1780(3):393–404.
- [16] Hakomori S. Structure and function of glycosphingolipids and sphingolipids: recollections and future trends [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1780(3):325–346.
- [17] Hakomori S. Organization and function of glycosphingolipids in membrane [J]. *Proc Jap Acad Ser B*, 2005, 81(6): 189–203.
- [18] Yoon S, Nakayama K, Hikita T, et al. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase is modulated by GM3 interaction with N-linked GlcNAc termini of the receptor [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(50):18987–18991.
- [19] Yoon S, Nakayama K, Takahashi N, et al. Interaction of N-linked glycans, having multivalent GlcNAc termini, with GM3 ganglioside [J]. *Glycoconi J*, 2006, 23(9):639–649.
- [20] Ono M, Handa K, Sonnino S, et al. GM3 ganglioside inhibits CD9-facilitated haptotactic cell motility: Co-expression of GM3 and CD9 is essential in down-regulation of tumor cell motility and malignancy [J]. *Biochemistry*, 2001, 40(21):6414–6421.
- [21] Miura Y, Kainuma M, Jiang H, et al. Reversion of the Jun-induced oncogenic phenotype by enhanced synthesis of sialosylactosylceramide (GM3 ganglioside) [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(46):16204–16209.
- [22] Sridhar SC, Miranti CK. Tetraspanin KAI1/CD82 suppresses invasion by inhibiting integrin-dependent crosstalk with c-Met receptor and Src kinases [J]. *Oncogene*, 2006, 25(16):2367–2378.
- [23] Birchmeier C, Birchmeier W, Gherardi E, et al. Met, metastasis, motility and more [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(12):915–925.
- [24] Todeschini AR, Dos Santos JN, Handa K, et al. Ganglioside GM2-tetraspanin CD82 complex inhibits Met and its cross-talk with integrins, providing a basis for control of cell motility through glycosynapse [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(11):8123–8133.