

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2017.05.011

· 综述 ·

Gli1 调控口腔鳞状细胞癌上皮-间充质转化的研究进展

张焕东 综述; 谢思明 审校

暨南大学医学院, 广东 广州(510632)

【摘要】 HH(hedgehog)信号通路轴由:hedgehoge配体(Shh、Ihh和Dhh)、Patch和Smo两个膜蛋白形成复合物以及下游锌指核转录因子Gli组成,HH信号通路中锌指核转录因子Gli家族以Gli1为主导并起到决定性作用。上皮-间充质转化与包括口腔鳞状细胞癌在内的多种肿瘤的侵袭和转移密切相关,关于口腔鳞状细胞癌与Shh/Gli1信号轴的作用研究报道较少见,现就口腔鳞状细胞癌发生上皮-间充质转化与Gli1的相关性研究进展作一综述。

【关键词】 Gli1; 上皮-间充质转化; HH信号通路; 口腔鳞癌; 肿瘤转移抑制

【中图分类号】 R739.8 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2017)05-0327-04

【引用著录格式】 张焕东,谢思明. Gli1调控口腔鳞状细胞癌上皮-间充质转化的研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2017, 25(5): 327-330.

The research progress of Gli1 in the regulation of epithelial mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma ZHANG Huan-dong, XIE Si-ming. Medical College of Ji'nan University, Guangzhou 510632, China

Corresponding author: XIE Si-ming, Email: xsming@sina.com, Tel: 0086-20-81704242

【Abstract】 HH (hedgehog) signal pathway consists the hedgehoge ligand (Shh, Ihh and Dhh), the Patch and Smo membrane protein complex and Zinc finger transcription factor Gli (Gli1, Gli2, Gli3). In HH (hedgehog) signaling pathway, Gli1 not only plays a dominant and decisive role in the zinc finger transcription factor Gli (Glioma-associated oncogene homolog) family, but also includes epithelial-mesenchymal transition (EMT) and oral squamous cell carcinoma, tumor invasion and metastasis. The research on oral squamous cell carcinoma and Shh/Gli1 signal axis is rare. In this paper, the squamous cell carcinoma of oral epithelial mesenchymal transformation and correlation study of quality Gli1 is reviewed.

【Key words】 Gli1; Epithelial-mesenchymal transition; Hedgehog signaling pathway; Oral squamous cell carcinoma; Tumor metastasis suppressor

肿瘤细胞的侵袭、转移机制多年来备受学者研究关注,口腔鳞状细胞癌是口腔颌面部发病率相对较高的上皮侵袭性肿瘤,是一个多步骤、复杂、动态的过程,具有不同程度鳞状分化,约占全身恶性肿瘤的3%^[1],其上皮细胞发生间充质转化

是影响治疗和预后的重要因素之一,受到多个信号转导通路调节。其中HH(hedgehog)信号通路中Gli1基因是诱导口腔鳞状细胞癌上皮-间充质转换现象的重要因子。现就Gli1基因的发现、结构和生物学功能及近年来与口腔鳞状细胞癌发生上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的相关研究进展作一综述。

1 Gli1 的概述

1.1 Gli1 的发现及其结构

有学者在果蝇中发现hedgehoge基因,随后在

【收稿日期】 2016-10-28; **【修回日期】** 2017-02-09

【基金项目】 国家自然科学基金青年基金项目(81101652);广东省科技计划项目(2014A020212585);暨南大学科研与培养创新基金(21615418)

【作者简介】 张焕东,医师,硕士, Email: 1936547062@qq.com

【通讯作者】 谢思明,副教授,博士后, Email: xsming@sina.com

哺乳动物中发现HH信号通路轴由:hedgehog配体(Shh、Ihh和Dhh)、Patch和Smo两个膜蛋白形成复合物以及下游锌指核转录因子Gli(Gli1、Gli2和Gli3)组成,Gli的3种分子存在相似的DNA结构域,与Shh信号通路下游基因序列结合,直接参与调控Shh/Gli1信号通路目的基因的转录复制。Kinzler等^[2]在1987年发现Gli1基因并且在恶性神经胶质瘤中详细阐述,因此将这个癌基因以神经胶质瘤相关癌基因命名,该基因定位于人类12号染色体q13.2~13.3,是一个级联大于1000个氨基酸的转录因子。Gli1将Hedgehog信号传导至核内后主要对目标基因有转录和激活功能,是Shh信号通路最为关键的激活剂,对Shh信号通路下游目的基因转录水平的改变起决定性作用,如CyclinD2、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管生成素(angiopoietin)等基因参与调控肿瘤细胞增殖分化、转移的多种分子基因转录水平,在胚胎生长发育过程中对胚胎细胞的增殖和分化发挥了重要作用^[3]。在Gli家族中Gli1被认为是Shh信号通路的可信标志,Gli2起到激活和部分的活化作用,而Gli3则是表现抑制功能^[4]。

1.2 Gli1的调节机制

Shh和Gli1是HH信号通路中的两个重要组成部分,Shh是信号肽,Gli1是下游核转录因子,认为Gli1高表达是HH信号通路激活的重要指标,能促进肿瘤的侵袭和转移。有研究在胰腺癌中发现HH信号通路以Shh/Gli1形式存在,Gli1参与EMT核转录因子的调节从而调控EMT发生;Shh/Gli1信号通路直接参与细胞的迁移和淋巴管的生成,并影响EMT的转化和基质金属蛋白酶9(matrix metalloprotein, MMP-9)的激活^[6]。HH信号通路是通过2种方式激活:一种是配体依赖性;另一种为非配体依赖性^[7]。Hedgehog可以通过复杂的信号转导级联反应来调节生物学功能,在正常情况下当Shh配体处于失活状态,Patch和Smo蛋白结合使得Smo的活性被抑制,核转录因子Gli1被磷酸化,此时Gli1被束缚于微管中的复合物(泛素化酶)所切割,使得Gli1不能以全长形式入核,靶基因的转录被抑制^[8]。当成体细胞发生癌变时,内源性Shh配体大量增加,并与Patch受体结合,Smo分离并激活,活化的Smo使泛素化酶磷酸化,导致Gli1蛋白解离并以全长的形式进入核,诱导靶基因的转录、复制。Smo在Shh/Gli1通路中扮演着信息转换器的角色,而Gli1是Gli中活性最强的转录因子,在

人类胚胎发育过程中Gli1处于高度活化状态并且精确调控细胞增殖和组织分化、维持组织极性,Gli1异常活化时,常与肿瘤的增殖分化、细胞凋亡、血管新生、侵袭转移以及预后不良密切相关^[9]。

2 Gli1与口腔鳞状细胞癌相关研究进展

原癌基因的激活和抑癌基因的抑制是肿瘤发生、发展的基础,近年来口腔鳞状细胞癌的相关性研究不断增加,涉及多个方面。端粒酶抑制因子X1(Pin/TRF1-interacting protein x1, Pinx1)具有抑癌作用,是公认的肿瘤分子标志物。研究发现Pinx1在口腔鳞状细胞癌中的表达水平显著低于正常口腔黏膜组织,随着口腔鳞状细胞癌恶性程度增加,Pinx1表达水平有所下降,并且与口腔鳞状细胞癌的淋巴结转移相关^[10]。周沛玲等^[11]发现口腔鳞状细胞癌“瘤芽”中自噬启动基因Beclin1和自噬标记蛋白微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, MAP1LC3)的表达在癌旁上皮、癌组织和口腔鳞状细胞癌“瘤芽”中的表达呈递减趋势,并且“瘤芽”自噬水平越低,越容易发生颈淋巴转移。陈虎等^[12]对特异AT序列蛋白2(special AT-rich sequence binding protein 2, SATB2)、胚胎干细胞关键蛋白Nanog、八聚体结合转录因子(octamer binding transcription factor 4, OCT4)进行研究,发现其在口腔鳞状细胞癌中的表达明显高于正常组,Nanog与肿瘤的局部浸润相关,SATB2、Nanog和OCT4在口腔鳞状细胞癌组织中高表达在促进口腔癌侵袭转移中发挥重要作用。抑癌基因p21、p27等的表达异常与细胞癌变后增殖失控密切相关,p15也是一个潜在的抑癌基因,口腔鳞状细胞癌组织中p15基因的蛋白和mRNA在病变组织中表达平均水平明显降低^[13]。

越来越多的研究表明,HH信号通路异常激活与Shh过度表达以及下游核转录因子Gli1上调相关,Gli1在乳腺癌^[14]、食管鳞癌组织^[15]、慢性淋巴细胞性白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)^[16-17]、胰腺癌^[18-19]、胃癌多个肿瘤发生及转移过程扮演着重要角色。为了测试HH/Gli1是否对激活口腔鳞状细胞癌发挥生物学作用,Yan等^[20]对7种口腔鳞状细胞癌细胞株中的Shh、Smo、Sufu、Ptch1、Gli1、Gli2及Gli3基因进行检测,发现在4类口腔鳞状细胞癌细胞株SCC4、SCC9、SCC25和CAL27中Gli1存在高表达,表明Shh/Gli1信号通路在口腔鳞状细胞癌中起重要作用。随后用SCC25和CAL27细胞株与环杷

明(cyclopamine)和GANT61试剂进行特异性结合,发现环杷明能通过抑制SOM活性,使Gli1被磷酸化,从而阻断口腔鳞状细胞癌中Gli1的转录,GANT61能直接抑制Gli1的DNA结合能力和抑制参与Gli转录介导的基因。张洪瑞^[21]通过检测HH信号转导通路在口腔鳞状细胞癌组织中的激活情况,发现Gli1在部分口腔鳞状细胞癌组织中有高表达,在正常黏膜无表达。

口腔鳞状细胞癌中E-cadherin、 α -catenin、 β -catenin膜表达降低与区域淋巴结侵袭、转移相关。Wushou等^[22]报道口腔鳞状细胞癌中twist的表达与区域淋巴结病理分级、肿瘤分期、远处转移相关,但与性别、年龄阶段等无关。王俊菊^[23]采用RT-PCR方法,以逆转录的cDNA为模板按照实验条件对目的基因进行Gli1扩增时发现,目的基因Gli1在口腔鳞状细胞癌组织明显高表达,对Gli1 mRNA采用图像扫描作半定量分析,结果显示Gli1 mRNA在口腔鳞状细胞癌组织的表达程度与在口腔正常黏膜组织中的表达程度存在较大差异。Atsumi等^[24]对口腔鳞状细胞癌细胞系A431进行研究,证实了Shh/Gli1信号通路的超负荷激活也与口腔鳞状细胞癌的发生、发展密切相关。

3 Gli1与上皮-间充质转化在肿瘤发生、发展中的演化关系

上皮-间充质转化是指在特定的病理和生理条件下,带有极性的上皮细胞转化为间质细胞的现象,上皮细胞具有可塑性,上皮-间充质转化是可逆的,间质细胞也可以转化为上皮细胞即发生间充质-上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET)。上皮-间充质转化的发生涉及多种机制,与细胞外基质、microRNA及炎症因子等有关,在多细胞生物胚胎发育、创伤愈合、肿瘤的侵袭迁移等过程中起重要作用。有学者研究发现基质细胞衍生因子-1系统诱导后活化PI3K-PKB信号通路,活化的磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)产生第二信使三磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 3 phosphate, PIP3)使下游蛋白激酶B(protein kinases, PKB)活化,经磷酸化作用激活或抑制下游靶蛋白PKB,诱导上皮-间充质转化的发生,下游效应器参与口腔鳞状细胞癌的淋巴结转移^[25]。

Brook等^[26]发现在肿瘤侵袭转移中,上皮-间充质转化分子标记物的表达与Gli1的表达密切相关。Shh/Gli1信号通路是通过自分泌和旁分泌形

式调节血管新生形成,诱导肿瘤细胞发生上皮-间充质转化。Seto等^[27]对弥漫性胃癌细胞的Gli1和上皮-间充质转化进行研究,发现Gli1的靶基因SIP1对上皮-间充质转化起主要调节作用。

李华等^[28]采用转化生长因子 β 1(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1)诱导肺腺癌A549细胞,发现细胞形态发生了改变,出现间质细胞的形态,vimentin表达显著上升,E-cadherin表达明显下降,同时伴存着Gli1mRNA及蛋白的高表达,提示在TGF- β 1诱导肺腺癌细胞发生上皮-间充质转化的过程中,存在Shh/Gli1信号通路的异常激活。梁勇等^[29]经过体外实验研究,证实了肾小管上皮细胞上皮-间充质转化的发生均有Shh/Gli1信号通路和TGF- β 1信号通路的参与。

有学者在对胃癌进行研究,发现Gli1在胃癌组织中的表达比正常胃黏膜组织明显上升,而上皮-间充质转化中的E-cadherin在胃癌组织中的表达则比正常胃黏膜组织明显下降,E-cadherin表达下调主要受转录抑制因子E盒结合锌指蛋白1(zinc finger e-box binding homeobox 1, ZEB1)、E盒结合锌指蛋白2(zinc finger e-box binding homeobox, ZEB2)和Snail调控。Gli1过度表达,进而促进Snail的表达上调,引起上皮钙粘素的表达降低抑制,诱导上皮-间充质转化的发生、发展^[30-31]。另外,Gli1通过上调RKT的方式还能够诱导转化生长因子 β 、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factors, FGFs)等自分泌生长因子,它们在口腔鳞状细胞癌上皮-间充质转化中发挥重要的作用,可以有效地抑制口腔鳞状细胞癌细胞的凋亡和促进肿瘤侵袭、转移。也有研究提出Gli1通过调控下游靶基因叉头盒转录因子M1(forkhead box M1, FOXM1)的表达而发挥在肿瘤侵袭转移中的重要作用^[32]。

4 展 望

Gli1作为Shh信号通路中最重要转录因子之一,在胚胎发生、器官形成中发挥着不可替代的作用。Gli1可能通过调控TGF- β 1、Snail等下游信号分子而调控上皮-间充质转化在口腔鳞状细胞癌侵袭转移的作用,Gli1还与众多其他信号通路和调控因子相互作用,形成一个复杂而全面的分子信号网络调节系统,共同在Gli1调控上皮-间充质转化机制中发挥生物学功能,精细地调控着生命的进程而发挥在肿瘤侵袭转移中的重要作用。Shh/Gli1

信号通路对口腔鳞状细胞癌侵袭转移机制尚不确定,有待进一步多层次和多方面的研究。目前对口腔鳞状细胞癌的研究重点多集中在蛋白质-蛋白质复合物信号通路上,但其通路形成关系复杂,继续深入研究这些与 Gli1 调控上皮-间充质转化相关的调节因子,增加 Gli1 基因与其他基因的相关性研究,可为研究肿瘤发生和侵袭转移的分子机制提供更广阔有力依据,最终将为临床的具体靶向治疗提供坚实可靠的理论支持和指导,今后的研究方向有待于在组氨酸激酶活性方面进一步拓展,需要更深入探讨口腔鳞状细胞癌的发病机制、加强预后判断等方面的研究,提高口腔鳞状细胞癌等人体常见恶性肿瘤的诊治水平。

参考文献

- [1] Takkunen M, Grenman R, Hukkanen M, et al. Snail-dependent and -independent epithelial-mesenchymal transition in oral squamous carcinoma cells[J]. *J Histochem Cytochem*, 2006, 54(11): 1263-1275.
- [2] Kinzler KW, Bigner SH, Bigner DD, et al. Identification of an amplified, highly expressed gene in a human glioma[J]. *Science*, 1987, 236(4797): 70-73.
- [3] Ruiz I, Altaba A. Therapeutic inhibition of hedgehog-Gli1 signaling in cancer epithelial: stromal, or stem cell targets[J]. *Cancer Cell*, 2008, 14(4): 281-283.
- [4] Eichenmuller M, Gruner I, Haq B, et al. Blocking the hedgehog pathway inhibits hepatoblastoma growth[J]. *Hepatology*, 2009, 49(2): 482-490.
- [5] Lauth M, Toftgard R. The hedgehog pathway as a drug target in cancer therapy[J]. *Curr Opin Investig Drugs*, 2007, 8(6): 457-461.
- [6] Fan HX, Wang S, Zhao H, et al. Sonic hedgehog signaling may promote invasion and metastasis of oral squamous cell carcinoma by activating MMP-9 and E-cadherin expression[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(7): 41-45.
- [7] 王俊菊, 李多杰, 王晓敏, 等. 口腔鳞状细胞癌中 Hh 通路关键分子 Shh/Ptch/Gli-1 的表达及临床意义[J]. *中国肿瘤*, 2013, 22(1): 41-44.
- [8] 颜朗, 孔宪炳. Smo、Gli1 在大鼠肝癌中的表达及维生素 D3 对 Smo、Gli1 的抑制[J]. *中国癌症杂志*, 2011, 21(1): 36-40.
- [9] Epstein DJ. Regulation of thalamic development by sonic hedgehog[J]. Published online, 2012[2016-10-28]. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2012.00057/full>.
- [10] 吕珊珊, 魏秀峰, 孙鑫, 等. Pinx1 在口腔鳞癌中的表达及意义[J]. *口腔医学研究*, 2016, 32(10): 1064-1066.
- [11] 周沛玲, 王成, 梁建锋, 等. Beclin1 和 LC3 在口腔鳞状细胞癌“瘤芽”中的表达及其与颈淋巴转移的关系[J]. *中华口腔医学研究杂志*, 2016, 10(4): 255-261.
- [12] 陈虎, 周培培, 杨蓉, 等. SATB2、NANOG 和 OCT4 在口腔鳞癌中的表达及临床意义[J]. *口腔医学*, 2015, 35(12): 1016-1019.
- [13] 陈月来, 刘陈敏. 口腔鳞癌组织中 p15 表达及其临床意义[J]. *中国实用口腔科杂志*, 2015, 8(11): 664-666.
- [14] 陈海, 戚晓东, 邱萍, 等. 胶质瘤相关癌基因 1(Gli1)表达与乳腺癌分子亚型的关系研究[J]. *实用癌症杂志*, 2014, 29(9): 1065-1066.
- [15] 张晚鱼, 王林, 王雷, 等. 食管鳞癌组织中 Shh 和 Gli1 的表达及其临床意义[J]. *中国综合临床*, 2015, 31(10): 865-867.
- [16] Desch P, Asslaber D, Kem D, et al. Inhibition of GLI, but not smoothed, induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells[J]. *Oncogene*, 2010, 29(35): 4885-4895.
- [17] 龙冰, 张祥忠, 李旭东, 等. Gli1 在成人急性淋巴细胞白血病中的表达及意义[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(4): 946-949.
- [18] Kelleher FC. Hedgehog signaling and therapeutics in pancreatic cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(4): 445-451.
- [19] Jang MJ, Baek SH, Kim JH, et al. UCH-L1 promotes cancer metastasis in prostate cancer cells through EMT induction[J]. *Cancer Lett*, 2011, 302(2): 128-135.
- [20] Yan M, Wang LJ, Zuo H, et al. HH/GLI signalling as a new therapeutic target for patients with oral squamous cell carcinoma[J]. 2011, 47(6): 504-509.
- [21] 张洪瑞. 口腔鳞癌 Shh 信号通路激活状态与其临床特征关系的研究[D]. 上海: 上海交通大学口腔医学系, 2010.
- [22] Wushou A, Pan HY, Liu W, et al. Correlation of increased twist with lymph node metastasis in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2012, 70(6): 1473-1479.
- [23] 王俊菊. Shh 信号通路在口腔鳞状细胞癌中的表达及意义[D]. 安徽: 蚌埠医学院口腔医学系, 2012.
- [24] Atsumi N, Ishii G, Kojima M, et al. Podoplanin a novel marker of tumor-initiating cells in human squamous cell carcinoma A431[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373(1): 36-41.
- [25] Yan W, Fu Y, Tian D, et al. PI3 kinase/Akt signaling mediates epithelial-mesenchymal transition in hypoxic hepatocellular carcinoma cell[J]. *Bio Chem Biophys Res Commun*, 2009, 382(3): 631-636.
- [26] Hammerschmidt M, Brook A, Mc Mahon AP, et al. The world according to hedgehog[J]. *Trends Genet*, 1997, 13(1): 14-21.
- [27] Seto M, Ohta M, Asaoka Y, et al. Regulation of the hedgehog signaling by the mitogen-activated protein kinase cascade in gastric cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2009, 48(8): 703-712.
- [28] 李华, 达丽隼, 范卫东, 等. Hedgehog 信号通路在 TGF-β1 诱导肺腺癌 A549 细胞上皮-间质转化中的作用[J]. *肿瘤*, 2014, 34(5): 397-403.
- [29] 梁勇, 陆红, 林成成, 等. TGF-β1 对话 Hedgehog-Gli1 信号调控肾小管上皮细胞表型转化和胶原累积[J]. *中国细胞生物学学报*, 2015, 37(1): 24-30.
- [30] 王栈山, 李继坤. Hedgehog 信号通路及 EMT 在进展期胃癌中的作用及意义[J]. *医学研究杂志*, 2013, 42(9): 119-124.
- [31] 林智平. Gli1 的表达及与上皮-间质转化的关系[J]. *江西医药*, 2012, 47(4): 367-369.
- [32] 陈丹, 陈红, 董良波, 等. Gli1 与 FoxM1 在子宫颈癌组织和细胞中的表达及意义[J]. *武汉大学学报*, 2016, 37(3): 536-539.

(编辑 张琳)