

- 64.
- [31] Murphy L L, Gher J, Steger R W, *et al.* Effects of delta 9-tetrahydrocannabinol on copulatory behavior and neuroendocrine responses of male rats to female conspecifics [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1994, 48 (4): 1011-1017.
- [32] Mallick H, Manchanda S K, Kumar V M. beta-Adrenergic modulation of male sexual behavior elicited from the medial preoptic area in rats [J]. *Behav Brain Res*, 1996, 74 (1/2): 181-187.
- [33] 杨淑玲. 人参皂苷单体配伍提高性功能的产品: 中国, 02160791.5 [P]. 2005-03-02.
- [34] Choi H K, Seong D H, Rha K H. Clinical efficacy of Korean red ginseng for erectile dysfunction [J]. *Int J Impot Res*, 1995, 7 (3): 181-186.
- [35] Hong B, Ji Y H, Hong J H, *et al.* A double-blind crossover study evaluating the efficacy of Korean red ginseng in patients with erectile dysfunction: a preliminary report [J]. *J Urol*, 2002, 168 (5): 2070-2073.
- [36] Choi H, Choi Y, Kim J. Penile blood change after oral medication of Korean red ginseng in erectile dysfunction patients [J]. *J Ginseng Res*, 2003, 27 (4): 165-170.
- [37] Kim S, Paick J. Clinical efficacy of Korean red ginseng on vasculogenic impotent patients [J]. *Korean J Androl*, 1999 (17): 23-28.
- [38] Choi H, Choi Y. Evaluation of clinical efficacy of Korea red ginseng for erectile dysfunction by international index of erectile function [J]. *J Ginseng Res*, 2001, 25: 112-117.
- [39] Choi H, Choi Y, Adaikan P, *et al.* Effectiveness of Korean red ginseng in erectile dysfunction: multi-national approach [J]. *J Ginseng Res*, 1999, 23: 247-256.
- [40] Marrocci L, Maguire J J, Droy-Lefaix M T, *et al.* The nitric oxide-scavenging properties of *Ginkgo biloba* extract EGb 761 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 201 (2): 748-755.

(收稿日期 2009-11-09)

CCL21/CCR7——抗肿瘤药物的新靶点

刘 巍¹, 李 洋², 李玮亮¹, 徐为人¹

(1. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193; 2. 天津医科大学总医院 病理科, 天津 300052)

摘 要:趋化因子 CCL21 与其受体 CCR7 在肿瘤细胞选择性和特异性转移过程中发挥重要作用, 可能成为抗肿瘤转移药物治疗的新靶点。就其结构和生物学功能、抗肿瘤作用机制、在恶性肿瘤转移中作用的研究进展作一综述, 为抗肿瘤新药研发提供思路。

关键词:趋化因子; CCL21; CCR7; 肿瘤转移; 靶点

中图分类号: R979.19

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)02-0120-04

CCL21/CCR7——New targets for antitumor drug discovery

LIU Wei¹, LI Yang², LI Yi-liang¹, XU Wei-ren¹

(1. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design & Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 2. Pathology Department, The General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

Key words: chemokine; CCL21; CCR7; tumor metastasis; target

趋化因子(chemokine)是一类由不同类型细胞分泌的、对免疫细胞具有趋化作用,能使细胞发生趋化运动的低相对分子质量($800 \sim 1.2 \times 10^4$)的细胞因子;在淋巴细胞的定向迁移,造血细胞、免疫细胞的发育和分化,炎症的发生,血管的生成及肿瘤的发生中分别起着不同的作用^[1]。肿瘤细胞的移动是肿瘤转移过程中最关键的一步,大量趋化因子的产生使一些肿瘤细胞优先转移至受伤和炎症组织部位,

而某些趋化因子又可以促进不同组织来源的肿瘤向特定部位扩散,表明在肿瘤的形成和发展中趋化因子网络的参与是复杂而精细的。趋化因子受体(chemokine receptor)是一类介导趋化因子行使功能的 G-蛋白偶联的 7 次跨膜受体,通常表达于免疫细胞、内皮细胞的细胞膜上。趋化因子的功能行使由趋化因子受体介导,二者的相互作用与细胞骨架重排、内皮细胞黏附和细胞定向游动密切相关。迄

今为止,已发现近50余种人趋化因子,19种人趋化因子受体。近年来有研究指出,趋化因子CCL21与其特异性受体CCR7在多种肿瘤的播散和器官特异性转移中发挥着重要的作用^[2]。

1 结构和生物学功能

CCL21属于CC类趋化因子,又称6Ckine或次级淋巴组织趋化因子(secondary lymphoid tissue chemokine, SLC)是CCR7的配体之一,最初是在淋巴结中被发现的, Nagria于1997年首次报道。在人和小鼠体内, CCL21高表达于二级淋巴器官,特别是淋巴结和脾脏上;另外,在淋巴结和派尔氏结(Peyer's patches, PPs)的毛细血管后微静脉也有表达。CCL21末端为趋化因子所共有的Asp-Cys-Cys-Leu氨基酸序列,编码CCL21的基因定位于人染色体的9p13;而小鼠至少有2个基因编码并合成2种不同形式的蛋白(CCL21a, CCL21b),它们在65位的氨基酸不同。CCL21由110个氨基酸组成,与其他人趋化因子有21%~33%的同源性,包括1个信号肽、4个半胱氨酸残基,不同的是CCL21有一个大约30个氨基酸构成的以羧基为末端的外显子,其中包括2个特定的半胱氨酸残基。CCL21对某些人T细胞株和外周血淋巴细胞具有高效的化学驱动作用,但与大多数趋化因子不同的是, CCL21对单核细胞和中性粒细胞没有趋化作用,提示它对淋巴细胞具有特异性。

CCR7是CC类趋化因子受体的成员之一,曾用名EB1-1、BLR-2和CMKBR7,含有378个氨基酸,其蛋白基因定位于17q12-q21.2。最初是由于B细胞感染EB病毒而被发现的,在幼稚T细胞、B细胞及树突状细胞(dendritic cells, DC)表面表达,感染人疱疹病毒-6和人疱疹病毒-7后在CD4⁺T细胞的表达上调,随DC的成熟,CCR7的表达也上调,转染TNF- α 基因可使DC表达CCR7的作用增强^[3]。

近年来有文献报道,在某些肿瘤细胞中也存在CCR7的高表达。Wang等^[4]在对头颈部肿瘤的研究中发现细胞可以通过自分泌及旁分泌CCL21来促进CCR7的活化,并提示其可能作为肿瘤形成和发展的生物标记物。

2 抗肿瘤作用机制

2.1 诱导DC及淋巴细胞

DC是功能最强的抗原提呈细胞,在肿瘤免疫

应答的诱导中具有独特的地位,其中DC从肿瘤部位到淋巴组织的迁移是关键的一步^[5]。研究发现DC在迁移成熟的过程中表达CCR7的量逐渐增多;CCR7基因转染DC后能有效促进DC向淋巴结的迁移,当DC与凋亡的纤维肉瘤细胞共同培养后,观察到24h内DC从肿瘤部位向引流淋巴结迁移,并检测到CCR7的表达增高,而区域淋巴结中SLC mRNA增高^[6],因此认为CCR7及其配体在诱导DC的抗肿瘤免疫反应中起重要作用。

通过基因打靶技术破坏小鼠CCR7的基因位点后,发现向淋巴结迁移的T细胞大多是幼稚T细胞。进一步分析表明,CCR7^{-/-}小鼠出现皮肤DC向引流淋巴结迁移功能缺陷,T、B淋巴细胞向淋巴结的派尔氏结迁移功能缺陷,T细胞免疫缺乏,体液免疫受损等现象。而向SLC缺乏的plt小鼠经皮注射SLC,能使T细胞有效地向淋巴结迁移^[7]。在Sharma等的实验中,注射SLC虽能有效治疗小鼠的肺部肿瘤,但对免疫缺陷及CD4和CD8基因敲除的小鼠却无效,说明SLC的抗肿瘤效应是CD4和CD8T淋巴细胞依赖性的。

Li等^[8]将SLC和IL-2基因转染DC后与T淋巴细胞、膀胱癌细胞共同培养后,发现DC/SLC-IL-2通过自分泌的方式促进DC增殖,并且具有显著的抗肿瘤作用。

2.2 抑制血管生成

肿瘤的生长需要新血管的生成以保证足够的供氧及营养物质,在肿瘤细胞的增殖和发展过程中存在血管生成及血管稳定因子之间的平衡。将小鼠的SLC转染C26结肠癌细胞系后,观察其在体内的抗肿瘤效应,发现成瘤性降低。进一步对血管密度及血红蛋白进行检测后提示,SLC的抗肿瘤效应部分是通过抑制血管的生成而达到的;在小鼠体内,SLC不仅能与CCR7结合,还能与CXCR3结合,但通过对CXCR3和CCR7检测发现,与C26肿瘤细胞相比,C26-6CK肿瘤中CXCR3表达量无变化,而CCR7的量明显升高,因此推测SLC的抗血管生成作用是通过与CCR7结合而并非与CXCR3结合所致。迄今为止,SLC是唯一的具有抗血管形成作用的CC类趋化因子,其他具有此作用的均为CXC类趋化因子。另外,已经证实,肿瘤细胞能够自分泌VEGF、PGE₂、TGF- β 等,这些因子均有促进血管生成的作用,而干扰素诱生的单核因子(MIG)和干扰素诱生蛋白10(IP-10)是有力的血管生成抑制因子。

当注入 SLC 后, VEGF、PGE₂、TGF- β 均明显下降, INF- γ 升高, 继之引起 MIG 和 IP-10 的升高, 从而起到抑制肿瘤血管生成的作用^[9]。

2.3 抗凋亡效应

关于 CCR7 在肿瘤细胞中抗凋亡机制的研究很少, 目前的研究主要集中在 DC、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞中。Sánchez-Sánchez 等^[10] 用 CCR7 的配体 CCL19 和 CCL21 刺激无血清的 DC, 其细胞凋亡的特征包括膜磷脂丝氨酸暴露、线粒体膜电势缺失及细胞膜与核的改变。这两种趋化因子均能诱导 PI3K/Akt 的快速激活, 对 Akt 能延长和持续的活化。干扰 PI3K、Gi 或 G 蛋白 β 、 γ 亚基能够取消趋化因子对 Akt 激活和存活所引起的效应。相比较而言, 对细胞外信号相关激酶 1/2 (ERK1/2), P38 或 c-Jun N-末端激酶 (JNK) 的抑制不起作用。NF- κ B 与趋化因子的抗凋亡效应有关, 因为 NF- κ B 的抑制减弱了 CCL19 和 CCL21 在细胞存活方面的效应, 趋化因子诱导的 NF- κ B 抑制剂 I κ B 的下调, 促进 NF- κ B 亚基 p65 入核。因此, CCR7 除了具有趋化作用外, 在 DC 中也能诱导抗凋亡信号。

3 在恶性肿瘤转移中的作用

趋化因子与相应受体结合可引起细胞内钙离子流动及丝状肌动蛋白的聚合, 后者与肿瘤细胞的伪足形成有关, 是肿瘤细胞浸润、转移所必需的。研究发现 CCL21 和受体 CCR7 相互作用与肿瘤外周淋巴转移有关, 而淋巴转移是影响肿瘤预后的重要因素。

Müller 等^[11] 指出, 趋化因子及受体的表达在肿瘤转移的部位上起关键作用。他对人的 7 种乳腺癌细胞系进行了多种趋化因子受体的检测 (其中包括 CCR1-CCR10、CXCR1-CXCR5、XCR1 和 CX3CR1), 发现仅有 CCR7 和 CXCR4 的表达比正常乳腺上皮细胞明显增高; 对 12 例 T2-T4 期的乳腺癌患者进行 CCR7 mRNA 水平的检测并与正常乳腺组织比较, 可见其表达量明显增高; 另外, 在淋巴结中检测到 CCL21 和 CCL19 的高表达, 而且 CCL21 较 CCL19 表达更高, 而对乳腺癌细胞系的检测发现没有或仅有少量 CCL21 的表达。因此, 认为特异的趋化因子受配体之间的相互作用可能在乳腺癌的转移过程中起重要作用。

Mashino 等^[12] 在对 64 例临床胃癌标本研究中发现, 6 种胃癌细胞系中有 4 种都表达 CCR7, 42 例 (67%) 免疫组化染色可见有 CCR7 的阳性细胞, 在

CCR7 阳性的胃癌病例中 66% 有明显的淋巴浸润和淋巴结转移, 与 CCR7 阴性病例比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 且 CCR7 阳性患者较阴性患者预后更差, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 对多因素行逐步回归分析得出与淋巴结转移相关的最重要的因素是 CCR7 的表达。同时 CCR7 阳性胃癌细胞系表现出对 CCL21 明显的剂量相关的趋化性, 而 CCR7 阴性胃癌细胞系则没有这种特性, 表明 CCR7 及其配体在肿瘤的淋巴结特异性转移方面与淋巴细胞的归巢有类似的作用机制, 即可能作为优势趋化因子, 由其浓度梯度控制肿瘤细胞的移动。

Takanami^[13] 用 71 例非小细胞肺癌患者手术标本验证了上述 CCR7 高表达与淋巴浸润、淋巴结转移、肿瘤大小、TNM 分期密切相关的结论。共有 45 例 (63.3%) CCR7 表达, 其中 26 例 (57.8%) 有淋巴结转移; 而在 26 例 CCR7 阴性表达的患者标本中仅 3 例 (11.5%) 有淋巴结转移。多元分析结果也提示 CCR7 是一项与淋巴结转移相关的非小细胞肺癌的独立预后因素。

Shang 等^[14] 检测了 85 例口腔鳞状细胞癌标本及 Tca113 细胞系, 发现 56 例 (65%) CCR7 表达阳性, 在发生次级淋巴结转移的病例更为明显, 而且与肿瘤大小 ($P = 0.014$)、临床分期密切相关 ($P = 0.009$)。Tca113 细胞系经 CCL21 刺激后 CCR7 阳性率增加, 与淋巴结的黏附力增强, 并可被抗-CCR7 抗体所阻断。结果提示 CCL21/CCR7 相互作用可能是诱导口腔癌向颈部淋巴结转移的重要机制。

4 小结

肿瘤细胞很可能是因为基因突变或翻译异常造成 CCR7 高表达, 并与淋巴细胞归巢相似的机制而形成转移。因此, 进一步研究 CCL21/CCR7 在肿瘤增殖及转移中的作用, 将为抗肿瘤药物的研发开辟新的途径^[15]。目前, 在人类免疫性相关疾病方面一些细胞因子已显示出良好的应用前景, 趋化因子基因疫苗与生物医药的研制有望成为新的肿瘤治疗策略与手段^[16-17]。

参考文献

- [1] Zlotnik A. Chemokines and cancer [J]. *Int J Cancer*, 2006, 119(9):2026-2029.
- [2] Raman D, Baugher P J, Thu Y M, *et al.* Role of chemokines in tumor growth [J]. *Cancer Lett*, 2007, 256(2):137-165.
- [3] Sanchez-Sanchez N, Riol-Blanco L, Rodriguez-Fernandez J L, *et al.* The multiple personalities of the chemokine receptor

- CCR7 in dendritic cells [J]. J Immunol, 2006, 176(9): 5153-5159.
- [4] Wang J, Seethala R R, Zhang Q, *et al.* Autocrine and paracrine chemokine receptor 7 activation in head and neck cancer: implications for therapy [J]. Natl Cancer Inst, 2008, 100(7): 502-512.
- [5] Suqaya M, Fang L, Cardones A R, *et al.* Oncostatin M enhances CCL21 expression by microvascular endothelial cells and increases the efficiency of dendritic cell trafficking to lymph nodes [J]. J Immunol, 2007, 177(11): 7665-7672.
- [6] Hirao M, Onai N, Hiroishi K, *et al.* CC chemokine receptor-7 on dendritic cells is induced after interaction with apoptotic tumor cells: critical role in migration from the tumor site to draining lymph nodes [J]. Cancer Res, 2006, 66(8): 2209-2217.
- [7] Levavasseur E, Metharom P, Dorban G, *et al.* Experimental scrapie in 'plt' mice: an assessment of the role of dendritic-cell migration in the pathogenesis of prion diseases [J]. Gen Virol, 2007, 88(8): 2353-2360.
- [8] Li Y G, Wang Z P, Tian J Q, *et al.* Dendritic cell transfected with secondary lymphoid-tissue chemokine and/or interleukin-2 gene-enhanced cytotoxicity of T-lymphocyte in human bladder tumor cells *in vitro* [J]. Cancer Invest, 2009, 27(9): 909-917.
- [9] Sharma S, Stolina M, Luo J, *et al.* Secondary lymphoid tissue chemokine mediates T cell-dependent antitumor responses *in vivo* [J]. Immunol, 2000, 164(9): 4558-4563.
- [10] Sa'nchez-Sa'nchez N, Riol-Blanco L, De la Rosa G, *et al.* Chemokine receptor CCR7 induces intracellular signaling that inhibits apoptosis of mature dendritic cells [J]. Blood, 2004, 104(3): 619-625.
- [11] Müller A, Homey B, Soto H, *et al.* Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [J]. Nature, 2001, 410(1): 50-56.
- [12] Mashino K, Sadanaga N, Yamaguchi H, *et al.* Expression of chemokine receptor CCR7 is associated with lymph node metastasis of gastric carcinoma [J]. Cancer Res, 2002, 62(15): 2937-2941.
- [13] Takanami I. Overexpression of CCR7 mRNA in nonsmall cell lung cancer: correlation with lymph node metastasis [J]. Int J Cancer, 2003, 105(2): 186-189.
- [14] Shang Z J, Liu K, Shao Z. Expression of chemokine receptor CCR7 is associated with cervical lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma [J]. Oral Oncol, 2009, 45(6): 480-485.
- [15] Godessart N. Chemokine receptors: attractive targets for drug discovery [J]. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1051: 647-657.
- [16] Liang C M, Ye S L, Zhong C P, *et al.* More than chemotaxis: a new anti-tumor DC vaccine modified by rAAV2-SLC [J]. Mol Immunol, 2007, 44(15): 3797-3804.
- [17] Mulé J J. Dendritic cell-based vaccines for pancreatic cancer and melanoma [J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, 1174: 33-40.

(收稿日期 2009-12-01)

(上接第 108 页)

- [27] Madureira M C, Martins A P, Gomes M, *et al.* Antimalarial activity of medicinal plants used in traditional medicine in S. Tome' and Pr'ncipe islands [J]. J Ethnopharmacol, 2002, 81(1): 23-29.
- [28] Goffin E, Ziemo, De-Mol P, *et al.* *In vitro* antiplasmodial activity of *Tithonia diversifolia* and identification of its main active constituents: tagitinin C [J]. Planta Med, 2002, 68(6): 543-545.
- [29] Elufioye T O, Agbedahunsi J M. Antimalarial activities of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) and *Crossopteryx febrifuga* (Rubiaceae) on mice *in vivo* [J]. J Ethnopharmacol, 2004, 93(2/3): 161-171.
- [30] Oyewole I O, Ibidapo C A, Moronkola D O, *et al.* Anti-malarial and repellent activities of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) leaf extracts [J]. J Med Plant Res, 2008, 2(8): 171-175.
- [31] Cos P, Hermans N, De Bruyne T, *et al.* Antiviral activity of Rwandan medicinal plants against human immunodeficiency virus type-1 [J]. Phytomedicine, 2002, 9(1): 62-68.
- [32] Elufioye T O, Alatishe O I, Fakoya F A, *et al.* Toxicity studies of *Tithonia diversifolia* A. Gray (Asteraceae) in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 122(2): 410-415.
- [33] Oyewole I O, Magaji Z J, Awoyinka O A. Biochemical and toxicological studies of aqueous extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) leaves in Wistar albino rats [J]. J Med Plant Res, 2007, 1(2): 30-33.

(收稿日期 2009-12-08)