

·综 述·

脾酪氨酸激酶与肿瘤

王华毅, 张兆祥

Functions of Spleen Tyrosine Kinase (Syk) Gene and Its Correlation to Neoplasms

WANG Hua-Yi, ZHANG Zhao-Xiang

[ABSTRACT] Spleen tyrosine kinase (Syk) was thought to be a hematopoietic cell-specific signaling molecule and plays an essential role in maturation of lymphocytes and activation of immune cells. Recent evidences show that it is also expressed by many non-hematopoietic cell types. Down-regulation of Syk expression was first observed during breast cancer progression, now its abnormal expression has also been detected in many other types of tumors. Syk could suppress tumorigenesis and metastasis, but the molecular mechanism remains unknown. Promoter hypermethylation is one of the mechanisms that lead to silencing of Syk gene. Increasing clinical evidences reveal a positive correlation of reduced Syk expression to increased risk for metastasis, and indicate that Syk may be a potential new tumor suppressor.

KEYWORDS: Tyrosine kinase; Syk; Neoplasms; Tumor suppressor

【摘 要】脾酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, Syk)在较长时间里被认为是造血细胞特有的信号分子,在淋巴细胞的成熟和免疫细胞的激活中起重要作用。近年来发现 Syk 在多种非造血细胞也有表达。最初观察到 Syk 在乳腺癌的演进中显著降低,后来发现 Syk 异常表达也见于其它许多肿瘤。研究表明, Syk 有抑制肿瘤发生和转移的功能,但 Syk 抑癌的分子机制仍大部分未明。Syk 基因启动子超甲基化是其沉默的机制之一。日益增多的临床研究显示, Syk 的低表达与肿瘤转移形成呈正相关,表明 Syk 可能是一个潜在的肿瘤抑制因子。

关键词:酪氨酸激酶; Syk; 肿瘤; 肿瘤抑制因子

中图分类号:R730.231 文献标识码: A

文章编号:1000-467X(2007)05-0555-06

三峡大学医学院
病理学教研室,
湖北 宜昌 443002

Department of Pathology,
Medical College,
China Three-Gorges University,
Yichang, Hubei, 443002,
P. R. China

通讯作者: 张兆祥

Correspondence to: ZHANG Zhao-Xiang

Tel: 86-717-6397198

Fax: 86-717-6397328

E-mail: sxdxzzx@yahoo.com.cn

收稿日期:2006-05-29

修回日期:2006-10-08

Syk 基因由日本学者 Taniguchi 等^[1] 1991 年从猪脾 cDNA 克隆出来,其编码蛋白是一种非受体型酪氨酸激酶,故被命名为脾酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, Syk)。最初对 Syk 的研究集中在它对造血细胞尤其是免疫细胞作用的探讨。在这些细胞中, Syk 参与免疫受体酪氨酸活化基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)介导的信号转导过程,与这些细胞的增殖、分化及吞噬等功能密切相关^[2]。最近发现, Syk 也存在于非造血细胞中。自 2000 年 Coopman 等^[3]首先发现乳腺癌细胞中有 Syk 表达以来,陆续检测到其它多种肿瘤细胞亦存在 Syk 表达,并根据实验结果推断 Syk 可能是一种候选抑癌基因。现就 Syk 及其与肿瘤关系的研究进展综述如下。

1 Syk 基因的克隆表达、结构及分布

1986 年, Zioncheck 等^[4]从牛胸腺分离出一个分子量为 40 ku 的酶蛋白(p40)。随后,他们对 p40 作了深入研究,认为 p40 很可能是 p72(分子量约为 72 ku 的未知酶蛋白)的活性水解片段;而 p72 似乎是一个能自身磷酸化的蛋白酪氨酸激酶。1991 年, Taniguchi 等^[1]首次从猪脾 cDNA 文库克隆出 p72 编码基因。该基因包含 1884 个碱基对的开放阅读框,编码蛋白含 628 个氨基酸,分子量为 71,618。p72 的氨基酸序列不含配体结合部位和跨膜结构域,但却含有一个相当保守的蛋白酪氨酸激酶区和两个 SH2 (Src homology 2)结构域。p72 与其它酪氨酸激酶具有

30%~40%的同源性,但非同源部分则具有独特性。因此,他们认为 p72 是一个新发现的非受体型酪氨酸激酶,并把其编码基因定名为 Syk。在此基础上,人的 Syk 基因随后也被成功克隆^[5]。

人 Syk 基因定位于 9 号染色体 q22 区,与猪 Syk 基因具有最大的同源性,93%的氨基酸序列相同。Syk 蛋白包含 629 个氨基酸,分子量为 72 ku。Syk 蛋白中含有两个串联的 SH2 结构域——SH2(N)和 SH2(C)以及一个体现酪氨酸激酶固有特性的激酶结构域(kinase)^[2]。SH2 结构域由约 100 个氨基酸组成,其三级结构已经确定,即 SH2 的中心为反平行 β 片层结构,是 SH2 与磷酸化酪氨酸残基作用的部位,两侧为 α 螺旋结构。SH2 的主要功能是介导胞质内多种信号蛋白的相互连接,形成蛋白异聚体复合物,从而调节信号转导途径中的信号传递。在免疫细胞的激活中,SH2 与免疫受体上磷酸化的 ITAM 结合,引发下游信号级联。连接 SH2 结构域和激酶结构域的氨基酸区域(interdomain B)含有许多酪氨酸残基,当这些酪氨酸残基被磷酸化后,能够充当多种蛋白如磷脂酶 C γ 1 (PLC- γ 1)、Vav 和 Cbl 等的锚定点(docking site),而这些蛋白可能是 Syk 的作用底物。位于催化区之外的酪氨酸残基,当其突变为苯丙氨酸后,则获得了突变体的功能;这些 C 末端酪氨酸介导抑制效应的机制尚不清楚,但可能与结合磷酸酶导致 Syk 脱磷酸化有关。Syk 蛋白还有一种含量较少的、自然存在的 SykB 亚型,它比全长型 Syk 少了 Interdomain B 区域的 23 个氨基酸(Insert)。这 23 个氨基酸序列在鼠、兔、人和猪 Syk 中高度保守,在免疫受体信号转导中有其独特作用,甚至对 Syk 的整体功能都有影响。比如,在肥大细胞中,Fc γ RI 激活 Syk 后的胞内信号转导比激活 SykB 后的效率更高,这与 Syk 和磷酸化 ITAM 的亲和力更大有关,Insert 可能起到加强 Syk 和 ITAM 联系或稳定 SH2 和 ITAM 结合等作用^[6]。ZAP-70 为 Syk 家族另一成员,仅表达于 T 细胞和自然杀伤细胞,其结构中亦不含 Insert。SykB 在功能上更

接近于 ZAP-70。

Syk 在所有造血细胞中均有表达。后陆续发现,Syk 在乳腺上皮细胞^[3]、气道上皮细胞^[7]、鼻成纤维细胞^[8]、血管内皮细胞^[9]、神经样细胞^[10]、肝细胞^[11]、黑色素细胞^[12]及胰腺上皮细胞^[13]等非造血细胞中也有广泛表达。Syk 通常定位于细胞质内,近年来有报道也可位于细胞核。Syk 和 SykB 的组织分布和细胞内定位可有不同,功能也可能存在差异^[14]。

2 Syk 的细胞生物学功能

2.1 抑制细胞分裂和增殖

Syk 有抑制细胞分裂和增殖的作用。Coopman 等^[3]将转染 Syk 基因的 MDA-MB-435 乳腺癌细胞株注入裸鼠,对所形成的肿瘤作免疫组化研究显示,Syk 表达阳性和缺失的乳腺癌细胞在细胞凋亡方面无显著差异;但表达 Syk 的乳腺癌细胞常增大,含多叶状核或多个核;分裂中期的纺锤体异常,表现为多个纺锤体极,且不一致地附着于浓缩的染色体。荧光原位杂交(fluorescent in situ hybridization,FISH)分析表明,增大的细胞是超二倍体,X 染色体和 17 号着丝点的数量比正常多。此外,还检测到 Syk 阳性的癌细胞在异常有丝分裂后生长受阻,结果胞质分裂失败。出现异常有丝分裂的原因,与 α -微管蛋白被 Syk 磷酸化,进而导致微管/微管蛋白单体比例失衡有关。最近,Zyss 等^[15]发现,Syk 也可位于中心体并具有催化活性。中心体 Syk 的表达严格地受时空调节,它在有丝分裂间期持续表达,但在有丝分裂期则因其降解表达锐减。通过乳腺上皮细胞过表达的一种外源性 Syk 嵌合体—(DsRed)-Syk 荧光蛋白,可以观察到细胞死亡和细胞异常分裂现象:(DsRed)-Syk 的瞬时过表达可引起不同于经典细胞凋亡的细胞突然死亡;稳定转染(DsRed)-Syk 的存活细胞,显示多极有丝分裂纺锤体、胞核大小不等和中心体数目增加。提示 Syk 可能是一种对细胞分裂有负性调节作用的新的中心体激酶。

2.2 对细胞迁移的影响

目前的研究结论尚不一致。

Mahabeleshwar 等^[16]对 Syk 阳性表达的 MCF-7 和阴性表达的 MDA-MB-231 两种乳腺癌细胞株的迁移作对比研究,发现过表达野生型 Syk 能抑制 MDA-MB-231 细胞迁移;而将 Syk 特异的反义寡核苷酸转染入 MCF-7 细胞,则大大增加其细胞迁移速度。进一步分析表明,Syk 对乳腺癌细胞的影响与磷脂酰肌醇激酶 3(PI3K)、NF- κ B 和尿激酶型纤溶酶原激活剂(urokinase-type plasminogen activator,uPA)等的共同作用有关。受 Syk 调节的 PI3K 和受 NF- κ B 介导的 uPA 分泌之间存在功能性分子联系,共同调控着乳腺癌细胞的运动。Li 等^[17]在一项有关 Syk 表达对生长相关癌基因(growth-related oncogene,GRO)蛋白分泌影响的实验中,亦研究了 MDA-MB-231 和 MCF-7 两种乳腺癌细胞,发现转染 Syk 的 MDA-MB-231 细胞受 GRO 调节,其侵袭基质时受阻。Inatome 等^[9]以人脐静脉内皮细胞为研究对象,以腺病毒介导的表达系统(adenovirus-mediated expression system)为主要研究方法,探讨 Syk 对内皮细胞迁移和增殖的影响,发现用腺病毒介导表达负显性 Syk 突变体,人脐静脉内皮细胞的迁移速度和增殖能力均显著降低,表明 Syk 对内皮细胞的迁移起关键作用。看来,Syk 对不同细胞运动和迁移的影响不尽相同。

2.3 对某些细胞因子分泌的影响

Syk 对可介导抗肿瘤侵袭活性的某些细胞因子的分泌也有一定影响。uPA 是丝氨酸蛋白酶家族的一个重要成员,能将纤溶酶原转变为纤溶酶。纤溶酶通过降解基质蛋白促进肿瘤细胞侵袭,因而 uPA 在肿瘤生长和转移中具有重要作用。Mahabeleshwar 等^[16]研究发现,uPA 的分泌依赖于 NF- κ B 激活。转染野生型 Syk 的 MDA-MB-231 乳腺癌细胞,可通过酪氨酸磷酸化 I κ B α (inhibitors of NF- κ B α)来抑制 NF- κ B 的活性,进而显著抑制 uPA 的分泌。GRO 是一种与炎症和生长调节有关的细胞因子,包括 GRO α 、GRO β 和 GRO γ 三个亚型。Li 等^[17]运用蛋白芯片技术,发现人乳腺癌细胞也表达 GRO,且 GRO 的分泌与 Syk 的表达呈负相关。

乳腺癌 MDA-MB-231 细胞过表达 Syk, GRO 的分泌水平显著下降;相反,乳腺癌 MCF-7 细胞中 Syk 表达下调,则导致 GRO 的分泌增多。进一步从 mRNA 水平上分析,发现 MDA-MB-231 细胞 Syk 过表达,可使 GRO α 和 GRO β 下调,但对 GRO γ 的分泌无影响。基质凝胶侵袭测定法 (matrigel invasion assays) 分析表明,在 MDA-MB-231 细胞中,Syk 表达水平与 GRO 活性呈负相关。提示 GRO 可作为 Syk 抗侵袭作用的一个潜在指标。趋化因子 RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted) 由成纤维细胞等产生,能吸引和激活嗜酸性粒细胞,并为脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 所诱导。Yamada 等^[8]观察到在人鼻成纤维细胞中,Syk 表达与 LPS 诱导的 RANTES 产生量呈正相关。将过表达的野生型 Syk 转染给人鼻成纤维细胞,可增加 RANTES 产生;而通过反义寡核苷酸抑制 Syk 表达,RANTES 生成量则减少。Azenshtein 等^[18]对乳腺癌 MCF-7 和 T47D 两种细胞中 RANTES 的表达进行检测分析,发现 RANTES 的表达与晚期癌直接相关。RANTES 不仅可诱导单核细胞移行到乳腺肿瘤部位,而且可在 TNF- α 和 IFN- γ 的协同作用下,促进乳腺癌细胞表达基质金属蛋白酶-9,导致乳腺癌演进。但目前尚不知在上皮组织中 RANTES 的表达是否受 Syk 调节。

2.4 抑制肿瘤细胞的成瘤能力

实验表明,转染 Syk 不仅影响肿瘤细胞的侵袭和转移,也抑制肿瘤细胞的成瘤能力。让移植在裸鼠皮下的 MDA-MB-435 乳腺癌细胞恢复 Syk 表达,会使其生长受到抑制,也可使肿瘤细胞在肺的寄居生长能力减弱;在体外,Syk 可降低肿瘤细胞向外侵袭性生长的速度^[3]。同样,将转染 Syk 的 Mel-Juso 黑色素瘤细胞注入重度联合免疫缺陷病 (SCID) 的小鼠皮下,也显示 Mel-Juso 细胞的成瘤作用延迟,所形成的肿瘤体积较小和形成的转移灶减少^[12]。另有报道称,表达 Syk 及表达 SykB 的肿瘤细胞成瘤能力存在差异。Wang 等^[14]研究了 Syk 和 SykB 在乳腺肿瘤组织中的亚细胞定位 (胞核/胞质) 及其功能差异,发现在正常乳腺组

织中仅可检测到 Syk,而在原发性乳腺肿瘤中则常见 SykB 异常表达。提示 Syk 能抑制乳腺癌细胞的侵袭,而 SykB 则促进乳腺癌演进。

2.5 Syk 的其它功能

Syk 对细胞分化也有影响。研究发现,鼠胚胎癌细胞系 P19 表达 Syk,该细胞系在向神经样分化 (neuron-like differentiation) 过程中存在 Syk 酪氨酸磷酸化;以腺病毒介导的表达系统介导 Syk 过表达,可诱导 P19 细胞轴突生成增加以及细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 的激活。Syk-ERK 信号途径可能有增强维甲酸诱导 P19 细胞向神经样分化的作用^[10]。Syk 对在不同培养基中生长细胞的影响也有差异。如在软琼脂培养基中,转染 Syk 的 MDA-MB-435 乳腺癌细胞系较之未转染细胞的生长能力显著下降;若将同种细胞种植于基质凝胶 (Matrigel) 中,则情况完全相反^[3]。

3 Syk 信号级联的调控网络及其功能

Syk 随细胞类型、受体和底物等的不同能激活多种信号途径,这些途径主要涉及细胞的前增殖 (pro-proliferation) 和前生存 (pro-survival) 等过程。其中 Syk 参与免疫细胞的信号转导过程已有广泛而深入的研究。现主要就 Syk 与肿瘤的一些信号转导网络及其功能叙述如下。

3.1 Syk 与 NF- κ B 信号途径

NF- κ B 系统主要涉及机体防御反应、组织损伤、应激、细胞分化和凋亡以及肿瘤生长抑制过程的信息传递。在多种细胞胞质内,NF- κ B 与抑制性蛋白如 I κ B 等结合,成为无活性的复合物。若某些因素使该复合物构象发生改变,则 NF- κ B 与所结合的蛋白分离而得以活化。活化的 NF- κ B 进入细胞核,启动或抑制有关基因的转录。前已述及,Syk 可对 NF- κ B 信号途径产生影响。Syk 抑制 MDA-MB-231 乳腺癌细胞分泌 uPA,是通过酪氨酸磷酸化 I κ B α 来阻断 NF- κ B 活性而实现的^[16]。近年来,Takada 等^[19,20]连续报道了在 H₂O₂ 和 TNF 诱导的 NF- κ B 信号途径的激活过程中,Syk 发挥了关键作用。

H₂O₂ 诱导 NF- κ B 激活,不是通过 I κ B α 的丝氨酸磷酸化或 I κ B α 的降解,而是先通过 H₂O₂ 激活 Syk,激活的 Syk 反过来再诱导 I κ B α 酪氨酸磷酸化,磷酸化的 I κ B α 接着诱导 p65 (NF- κ B 的一种亚单位) 的丝氨酸磷酸化,最终导致 NF- κ B 激活。TNF 诱导 NF- κ B 激活之前也激活了 Syk,但激活的 Syk 是直接磷酸化还是通过激活的 c-Src 诱导 I κ B α 磷酸化,目前尚不清楚。

3.2 Syk 与 Src 和 EGFR

Src 和 EGFR 是目前研究较为清楚的两酪氨酸激酶,二者均与肿瘤发生关系密切,许多肿瘤中 Src 和 EGFR 表达增强。尚有实验证明,Src 和 EGFR 在生长信号中起协同作用,尤其多见于乳腺癌。BT549 乳腺癌细胞系具有内源性高水平 EGFR 和高 Src 活性,Syk 能抑制 BT549 细胞的增殖和异常分化,并能明显降低 Src 激酶的活性。提示 Syk 可能是通过抑制 Src 活性而抑制肿瘤生长^[21]。Ruschel 等^[22]对人乳腺上皮衍生细胞 MCF-10A 中 Syk 和 EGFR 家族的表达及其相互关系进行分析,发现 Syk 能干扰 EGFR 及其下游信号分子的酪氨酸残基磷酸化,而对 HER2 和 HER3 无影响。另一方面,EGFR 也对 Syk 存在负反馈调节效应,即 Syk 和 EGFR 相互抑制各自的信号通路,其机制尚不清楚。

3.3 Syk 与 Ras-Raf-MAPK 信号级联

Ras 作为一种 GTP 酶,是 MAPK 磷酸化级联反应的主要调节分子。MAPK 在多种信号途径中充当共同的信号转导成分,在细胞周期调控中发挥着重要作用。Ras-Raf-MAPK 信号级联是人和哺乳动物细胞中主要的信号转导系统。Syk 与 Ras-Raf-MAPK 信号级联的某些过程关系密切。Jabril-Cuenod 等^[23]报道,肥大细胞 RBL-2H3 的 Fc ϵ RI 受体与抗原结合后,依赖 Syk 的衔接蛋白 Shc 磷酸化可使 Shc 与 Grb2 的联系增强,通过 Shc-Grb2-Sos 途径最终激活 Ras-Raf-MAPK 级联。激活的 Fc ϵ RI 受体也可诱导 RBL-2H3 肥大细胞膜区室的蛋白激酶 C (PKC),使 PKC β I 的 Tyr-662 和 PKC α 的 Tyr-658 酪氨酸位点分别被 Syk 磷酸化,结

果二者均募集 Grb2/Sos 复合体,并使 Ras-Raf-MAPK 完全激活^[24]。

3.4 Syk 与 PI3K 信号途径

PI3K 以其分布广泛、参与并产生酯类第二信使,激活细胞内大量酶级联反应,调节多种细胞的生存、激活、增殖和分化,是研究细胞信号转导机制的热点。多项研究表明,Syk 与 PI3K 的信号转导有联系。在 B 细胞中,当 BCR 结合抗原后,Syk 对 Akt 的激活起关键作用,而 Akt 的激活则依赖于 Syk 对 PI3K 的活化^[25]。Moon 等^[26]运用酵母双杂交系统等技术,深入研究了 Syk 与 PI3K 直接相互作用的分子基础。发现 PI3K 的调节亚单位 p85 是最主要的 Syk 结合蛋白,而且 p85 的 C-末端 SH2 结构域对应于 Syk 的 pTyr-317,是主要的作用位点,二者间的亲和力甚至超过 c-Cbl 酪氨酸激酶结合(tyrosine kinase binding,TKB)结构域与酪氨酸残基的结合力。新近,Li 等^[27]研究了单克隆抗体增效剂 β -葡聚糖对肿瘤细胞的杀伤作用。他们发现,荷瘤小鼠经 β -葡聚糖和抗肿瘤单克隆抗体的联合作用,肿瘤几乎完全停止生长。其作用机制是:荷瘤小鼠的巨噬细胞处理 β -葡聚糖后,产生一种分子量为 25 ku 的片段;该片段能结合中性粒细胞的补体受体 3(CR3),诱导产生部分新表位并引发依赖 CR3 的细胞毒反应。这个过程需要 Syk 参与并激活 PI3K,即 β -葡聚糖的作用涉及到 CR3-Syk-PI3K 信号途径。

3.5 Syk 对细胞骨架网络的调控

细胞骨架(微管、微丝和中间丝)是真核细胞内蛋白质组装的最高形式,使细胞质形成有组织的和动态性空间结构。细胞骨架网络除了介导细胞内外信息跨膜转导等功能外,也赋予细胞张力、收缩与运动动力。近来年的研究表明,Syk 也可使一些与细胞骨架结构和功能有关的物质磷酸化,这对于细胞粘附和运动至关重要。Peters 等^[28]为了检测活化的 Syk 的亚细胞定位,用超速离心法将活化的 B 细胞分离为可溶性和微粒状两部分,发现活化的 Syk 主要存在于可溶性部分。从可溶性部分还分离出一种分子量为 54 ku 的 Syk 免疫共沉淀物,经肽谱法(peptide mapping)确定为 α -微管蛋白。体外研

究证实,该 α -微管蛋白是 Syk 极好的作用底物。B 细胞中 Syk 被激活后,在胞质溶胶中和 α -微管蛋白相互作用并使其磷酸化。Cortactin 最初被认为是 v-Src 的一个作用底物,它是肌动蛋白装配和组成的重要分子支架。后来发现 Cortactin 还与其它多种蛋白,如丝状肌动蛋白(filamentous-actin)、肌动蛋白相关蛋白(actin-related protein,Arp)2/3 复合体等相互作用。以肌动蛋白骨架网络为基础的 Cortactin,在细胞内吞、迁移、侵袭、黏附、突触形成(synaptic organization)和细胞形态发生中有重要作用。Cortactin 在肌动蛋白重塑中的作用受酪氨酸和丝氨酸-苏氨酸激酶的调控^[29]。Maruyama 等^[30]在用 12-O-十四烷酰佛波酯醋酸酯-13(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate,TPA)诱导人 K562 白血病细胞系分化形成巨核细胞的实验中,发现在分化过程中引起了 Cortactin 的酪氨酸磷酸化,同时由于 TPA 的刺激也激活了 Syk。此时细胞过表达负显性 Syk,结果 Cortactin 的酪氨酸磷酸化大大减弱。表明在经 TPA 处理的 K562 细胞中,Syk 可使 Cortactin 磷酸化。

4 Syk 在肿瘤组织中的表达及其意义

近年来多项研究表明,Syk 能在人乳腺癌、胃癌和淋巴造血系统肿瘤等恶性肿瘤中表达,而且其表达与肿瘤的发生、发展和预后关系密切。Coopman 等^[3]报道,Syk-mRNA 及蛋白在侵袭性乳腺癌组织中呈低表达甚至不能检出。转染野生型 Syk 到高致瘤性和高转移性的乳腺癌细胞中,可抑制肿瘤生长及转移瘤形成。相反,在 Syk 表达阳性的乳腺癌细胞系中,蛋白激酶缺陷的 Syk 过表达,则显著增加其肿瘤发生率及其生长速度。这一结论后来得到了多项临床研究的证实和补充。Nakashima 等^[31]运用免疫组化技术,观察了 Syk 在胃癌细胞核的表达情况。发现 42.0%(106/250)的病例 Syk 表达阳性,且主要表达于 T1 期胃癌,有淋巴结和静脉转移者则表达缺失($P<0.0001$)。Syk 阳性的患者,5 年生存率(92.0%)明显高于 Syk 阴性者

(67.0%, $P=0.0003$)。虽然多因素分析表明,胞核 Syk 表达不是一个独立的预后因素,但对于早期胃癌,胞核是否表达 Syk,仍可作为术前判断有无淋巴结转移的一个有用的预测指标。Goodman 等^[32]研究儿童 CD19+CD10-前 B 细胞急性淋巴细胞性白血病时发现,白血病细胞 Syk-mRNA 存在核酸序列紊乱,导致 Syk 蛋白活性减弱且表达水平下降。他们用 inter-exonic PCR 和基因克隆技术证实,Syk-mRNA 核酸序列紊乱是由于核苷酸拼接错误(mis-splicing)、外显子跳跃(exon skipping)、或包含交替外显子(inclusion of alternative exons)等原因造成的。据称,这是首次发现在人类造血细胞恶性肿瘤中存在特异的酪氨酸激酶缺乏。

此外,Syk 在黑色素瘤^[12]、结直肠癌^[33]、胰腺癌^[13]及肝细胞癌^[34]中也有表达,且随着肿瘤生物学行为恶性方向发展,其表达亦呈逐步降低乃至缺失状态。综合上述实验及临床资料可以看出,Syk 有抑制肿瘤生长和扩散的作用。另一方面,转染了 Syk 的某些肿瘤细胞,其生长和转移直接受到抑制^[3]。据此,可初步认为 Syk 可能是一种抑癌基因,但这尚需更多的实验及临床研究来证实。

有些研究还探讨了 Syk 在肿瘤中表达的调节机制。目前已形成的初步认识有:①在自然发生的肿瘤中,目前尚未发现 Syk 基因突变体或同源染色体缺失,导致 Syk 基因沉默的确切机制仍不清楚。②在肿瘤中主要表现为 Syk-mRNA 的表达缺失,这表明 Syk 表达在转录水平的调节上存在问题。③在乳腺癌^[35,36]、胃癌^[31]、结直肠癌^[33]、胰腺癌^[13]、肝细胞癌^[34]、淋巴瘤^[37]及卵巢粒层细胞瘤^[38]等肿瘤中发现,Syk 基因启动子 CpG 岛存在甲基化,由此推断 Syk 基因启动子甲基化可能是其基因沉默的一种机制。

5 结 语

Syk 曾被认为是免疫系统特有的分子,如今得到了进一步的拓展研究。已有的研究结论显示,Syk 不仅广泛表达于众多非造血细胞,而且可能是一种新的肿瘤抑制因子,Syk 基因启动子

CpG 岛调节序列的超甲基化可能是使其沉默的一种机制。目前针对 Syk 基因的肿瘤治疗尚未开展,但以下几种治疗思路在理论上是可行的。①基因治疗:将 Syk 基因转染入免疫细胞,激活更多的免疫细胞发挥抗肿瘤免疫作用;将 Syk 基因转染入肿瘤细胞,阻止肿瘤细胞的生长与扩散;或将 Syk 基因联合转染给这两种细胞协同发挥抗肿瘤作用。②应用甲基化抑制剂治疗:早期检测肿瘤组织中 Syk 基因启动子甲基化状态,选择性应用甲基化抑制剂以恢复 Syk 基因表达,发挥其抑癌作用。

Syk 作为一种候选抑癌基因,还有待深入研究。尚需解决的问题主要是:①Syk 信号转导网络与肿瘤的关系;②Syk 在肿瘤中表达的调控机制;③Syk 在肿瘤细胞中的具体定位(胞质/胞核)及其功能差异;④Syk 亚型的检测及功能研究等。由于 Syk 表现出的抑癌作用实质上是复杂的 Syk 信号转导网络综合作用的结果,所以 Syk 信号转导网络与肿瘤的关系应是进一步研究的重点。只有通过充分揭示 Syk 不同信号转导途径的差异及其纵横联系,并全面了解影响 Syk 的信号成员(包括受体、配体和相关底物等)及其相互作用,才能最终明确 Syk 抑制肿瘤生长及扩散的机制;在此基础上,结合相关的其它研究成果,将使 Syk 在肿瘤的临床诊治中发挥其应有作用。

[参 考 文 献]

- [1] Taniguchi T, Kobayashi T, Kondo J, et al. Molecular cloning of a porcine gene syk that encodes a 72-kDa protein-tyrosine kinase showing high susceptibility to proteolysis [J]. J Biol Chem, 1991, 266 (24): 15790-15796.
- [2] Turner M, Schweighoffer E, Colucci F, et al. Tyrosine kinase SYK: essential functions for immunoreceptor signaling [J]. Immunol Today, 2000, 21 (3): 148-154.
- [3] Coopman P J, Do M T, Barth M, et al. The Syk tyrosine kinase suppresses malignant growth of human breast cancer cells [J]. Nature, 2000, 406 (8): 742-747.
- [4] Zioncheck T F, Harrison M L, Geahlen R L. Purification and characterization of a protein-tyrosine kinase from bovine thymus [J]. J Biol Chem, 1986, 261 (33): 15637-15643.
- [5] Law C L, Sidorenko S P, Chandran K A, et al. Molecular cloning of human Syk. A B cell protein-tyrosine kinase associated with the surface immunoglobulin M-B cell receptor complex [J]. J Biol Chem, 1994, 269 (16): 12310-12319.
- [6] Latour S, Zhang J, Siraganian R P, et al. A unique insert in the linker domain of Syk is necessary for its function in immunoreceptor signalling [J]. EMBO J, 1998, 17 (9): 2584-2595.
- [7] Ulanova M, Puttagunta L, Marcet-Palacios M, et al. Syk tyrosine kinase participates in beta1-integrin signaling and inflammatory responses in airway epithelial cells [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 288 (3): 497-507.
- [8] Yamada T, Fujieda S, Yanagi S, et al. Protein-tyrosine kinase Syk expressed in human nasal fibroblasts and its effect on RANTES production [J]. J Immunol, 2001, 166 (1): 538-543.
- [9] Inatome R, Yanagi S, Takano T, et al. A critical role for Syk in endothelial cell proliferation and migration [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 286 (1): 195-199.
- [10] Tsujimura T, Yanagi S, Inatome R, et al. Syk protein-tyrosine kinase is involved in neuron-like differentiation of embryonal carcinoma P19 cells [J]. FEBS Lett, 2001, 489 (2-3): 129-133.
- [11] Tsuchida S, Yanagi S, Inatome R, et al. Purification of a 72-kDa protein-tyrosine kinase from rat liver and its identification as Syk: involvement of Syk in signaling events of hepatocytes [J]. J Biochem (Tokyo), 2000, 127 (2): 321-327.
- [12] Hoeller C, Thallinger C, Pratscher B, et al. The non-receptor-associated tyrosine kinase Syk is a regulator of metastatic behavior in human melanoma cells [J]. J Invest Dermatol, 2005, 124 (6): 1293-1299.
- [13] 陈明霞, 丁永斌, 蒋奎荣, 等. 酪氨酸激酶 syk 在胰腺癌中的表达检测及其临床意义 [J]. 南京医科大学学报 (自然科学版), 2003, 23 (5): 492-493.
- [14] Wang L, Duke L, Zhang P S, et al. Alternative splicing disrupts a nuclear localization signal in spleen tyrosine kinase that is required for invasion suppression in breast cancer [J]. Cancer Res, 2003, 63 (15): 4724-4730.
- [15] Zyss D, Montcourrier P, Vidal B, et al. The Syk tyrosine kinase localizes to the centrosomes and negatively affects mitotic progression [J]. Cancer Res, 2005, 65 (23): 10872-10880.
- [16] Mahabeleshwar G H, Kundu G C. Syk, a protein-tyrosine kinase, suppresses the cell motility and nuclear factor kappa B-mediated secretion of urokinase type plasminogen activator by inhibiting the phosphatidylinositol 3'-kinase activity in breast cancer cells [J]. J Biol Chem, 2003, 278 (8): 6209-6221.
- [17] Li J, Sidell N. Growth-related oncogene produced in human breast cancer cells and regulated by Syk protein-tyrosine kinase [J]. Int J Cancer, 2005, 117 (1): 14-20.
- [18] Azenshtein E, Luboshits G, Shina S, et al. The CC chemokine RANTES in breast carcinoma progression: regulation of expression and potential mechanisms of promalignant activity [J]. Cancer Res, 2002, 62 (4): 1093-1102.
- [19] Takada Y, Aggarwal B B. TNF activates Syk protein tyrosine kinase leading to TNF-induced MAPK activation, NF-kappaB activation, and apoptosis [J]. J Immunol, 2004, 173 (2): 1066-1077.
- [20] Takada Y, Mukhopadhyay A, Kundu G C, et al. Hydrogen peroxide

- activates NF-kappa B through tyrosine phosphorylation of I kappa B alpha and serine phosphorylation of p65: evidence for the involvement of I kappa B alpha kinase and Syk protein-tyrosine kinase [J]. J Biol Chem, 2003, 278(26): 24233-24241.
- [21] Moroni M, Soldatenkov V, Zhang L, et al. Progressive loss of Syk and abnormal proliferation in breast cancer cells [J]. Cancer Res, 2004, 64(20): 7346-7354.
- [22] Ruschel A, Ullrich A. Protein tyrosine kinase Syk modulates EGFR signalling in human mammary epithelial cells [J]. Cell Signal, 2004, 16(11): 1249-1261.
- [23] Jabril-Cuenod B, Zhang C, Scharenberg A M, et al. Syk-dependent phosphorylation of Shc. A potential link between FcepsilonRI and the ras/mitogen-activated protein kinase signaling pathway through SOS and Grb2 [J]. J Biol Chem, 1996, 271(27): 16268-16272.
- [24] Kawakami Y, Kitaura J, Yao L, et al. A Ras activation pathway dependent on Syk phosphorylation of protein kinase C [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(16): 9470-9475.
- [25] Craxton A, Jiang A, Kurosaki T, et al. Syk and Bruton's tyrosine kinase are required for B cell antigen receptor-mediated activation of the kinase Akt [J]. J Biol Chem, 1999, 274(43): 30644-30650.
- [26] Moon K D, Post C B, Durden D L, et al. Molecular basis for a direct interaction between the Syk protein-tyrosine kinase and phosphoinositide 3-kinase [J]. J Biol Chem, 2005, 280(2): 1543-1551.
- [27] Li B, Allendorf D J, Hansen R, et al. Yeast beta-glucan amplifies phagocyte killing of iC3b-opsonized tumor cells via complement receptor 3-Syk-phosphatidylinositol 3-kinase pathway [J]. J Immunol, 2006, 177(3): 1661-1669.
- [28] Peters J D, Furlong M T, Asai D J, et al. Syk, activated by cross-linking the B-cell antigen receptor, localizes to the cytosol where it interacts with and phosphorylates alpha-tubulin on tyrosine [J]. J Biol Chem, 1996, 271(9): 4755-4762.
- [29] Lua B L, Low B C. Cortactin phosphorylation as a switch for actin cytoskeletal network and cell dynamics control [J]. FEBS Lett, 2005, 579(3): 577-585.
- [30] Maruyama S, Kurosaki T, Sada K, et al. Physical and functional association of cortactin with syk in human leukemic cell line K562 [J]. J Biol Chem, 1996, 271(12): 6631-6635.
- [31] Nakashima H, Natsugoe S, Ishigami S, et al. Clinical significance of nuclear expression of spleen tyrosine kinase (Syk) in gastric cancer [J]. Cancer Lett, 2006, 236(1): 89-94.
- [32] Goodman P A, Wood C M, Vassilev A, et al. Spleen tyrosine kinase (Syk) deficiency in childhood pro-B cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Oncogene, 2001, 20(30): 3969-3978.
- [33] 杨祖立, 汪建平, 元云飞, 等. 结直肠癌侵袭性与脾酪氨酸激酶基因 Syk 启动子甲基化的关系 [J]. 中华实验外科杂志, 2005, 22(1): 68-70.
- [34] 元云飞, 汪建平, 李锦清, 等. DNA 甲基化导致肝细胞癌 SYK 基因失表达 [J]. 中国肿瘤临床, 2006, 33(6): 307-309.
- [35] Yuan Y, Mendez R, Sahin A, et al. Hypermethylation leads to silencing of the SYK gene in human breast cancer [J]. Cancer Res, 2001, 61(14): 5558-5561.
- [36] 丁永斌, 武正炎, 王 水, 等. 候选抑癌基因 Syk 启动子甲基化与乳腺癌发生转移的关系 [J]. 中华医学杂志, 2004, 84(4): 290-294.
- [37] Goodman P A, Burkhardt N, Juran B, et al. Hypermethylation of the spleen tyrosine kinase promoter in T-lineage acute lymphoblastic leukemia [J]. Oncogene, 2003, 22(16): 2504-2514.
- [38] Dhillon V S, Young A R, Husain S A, et al. Promoter hypermethylation of MGMT, CDH1, RAR-beta and SYK tumour suppressor genes in granulosa cell tumours (GCTs) of ovarian origin [J]. Br J Cancer, 2004, 90(4): 874-881.

[编辑:钟均行;校对:何 华]