

DDR1 在肝细胞癌中的研究进展

臧玉静¹ 胡志超^{2*}

1. 开封大学医学部 河南 开封 475000; 2. 河南大学淮河医学 河南 开封 475000

【摘要】 盘状结构域受体酪氨酸激酶 (discoidin domain receptor tyrosine kinases, DDRs) 是新近发现的一种受体型酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinases, RTKs), 能与多种胶原结合并被其激活, 参与细胞内外信号的传递, 在哺乳动物中包括 DDR1 和 DDR2 两个亚型。多项研究表明, DDR1 不仅参与细胞黏附和细胞增殖, 还在肿瘤的发生发展中发挥重要作用。研究发现, 肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 组织中 DDR1 的表达与术后复发关系尤为密切, 有望成为 HCC 早期诊断的分子标志物, 并有可能为 HCC 的基因治疗提供新的靶点。现将 DDR1 在 HCC 中的研究进展作一综述。

【关键词】 DDR1; 肝细胞癌; 研究进展

【中图分类号】 R735.7

【文献标识码】 A

【文章编号】 2096-1685(2021)50-161-02

1 DDR1 的分子生物学特征

1993 年, Johnson^[1] 等在筛选乳腺癌细胞的蛋白酪氨酸激酶时 (protein tyrosine kinases, PTKs) 发现了 DDR1 分子, DDR1 是由 N 端的胞外区、跨膜区和 C 端的胞内激酶区 3 部分组成, 因其胞外区含有一个类似盘状结构域的结构, 故命名为 DDR。DDR1 与随后 Lai 等发现的 DDR2 组成了 DDRs 家族, 同属 RTKs 超家族中的亚族。

DDR1 基因位于人类第六号染色体上的 6p21.3, 基因组长约 12kb, 包含 17 个外显子, 编码含 913 个氨基酸组成的蛋白质。根据 mRNA 剪切部位的不同, DDR1 可分为 5 个不同的亚型, 分别为 a、b、c、d、e 型。DDR1b 在富含脯氨酸的跨膜区含有外显子 11 编码的 37 个氨基酸序列, 而 DDR1a 缺失这一区域; DDR1c 由 919 个氨基酸组成, 为 DDR1 亚型中最长的转录产物, 其在激酶起始区域插入了一段 6 个氨基酸结构; DDR1d 和 DDR1e 是邻跨膜区多余的剪切片段。因 a、b、c 型保留了阅读框架而具有激酶活性, d、e 超出了阅读框架, 故无激酶活性。DDR1 在结构上有两大特点: 其一是 N 端的 155 个氨基酸残基组成的盘状结构区 (discoidin region, DR), 其二是在 DR 和跨膜区之间存在很长的邻跨膜区 (justatransmembrane region, JM)。DDR1 的这些结构特点提示其将异于经典的 RTKs 配体结合机制和跨膜机制。

2 DDR1 的激活以及在肿瘤细胞中的信号通路

2.1 DDR1 的激活 DDR1 可与 I、II、III、IV、V 和 VIII 型胶原结合, 但主要与 I、II、III 型胶原结合。DDR1 与配体结合后进行受体自身磷酸化, 与其他 RTKs 不同的是: 可溶性生长因子不能激活 DDR1, 且与胶原的激活过程非常缓慢, 但活化状态可以维持较长时间。最近有研究提出了 DDR1 的激活机制, 其用荧光蛋白标记 DDR1 蛋白, 揭示了胶原蛋白暴露诱导受体的快速聚集, 之后发生 DDR1 内化成早期核内体囊泡, 经历胞内磷酸化过程, 激活下游信号通路, 最后 DDR1 再次返回到细胞表面, 至于胶原蛋白是如何结合到 DDR1 上的具体过程目前还不十分清楚, 但可以肯定的是发生了 DDR1 跨膜区 (JM 区) 的旋转适应。除了经典的胶原蛋白激活 DDR1 外, 其他信号通路的激活也同样可以激活 DDR1。在乳腺癌中, 由 TGF β 调控的 Wnt5a/Frzd1 信号通路激活对于 DDR1 最大磷酸化起着重要作用, 而对于乳腺上皮细胞和血管平滑肌细胞, Src 在 DDR1 的磷酸化过程中也是必不可少的。

2.2 DDR1 在肿瘤细胞中的信号通路 到目前为止, 关于 DDR1 在肿瘤细胞下游信号通路中的报道尚不多见。在乳腺癌和结肠癌细胞系中, DDR1 通过激活 Ras/Raf/ERK 和 PI3K/Akt 信号通路, 导致抗凋亡蛋白 Bcl-xL 的表达上调, 并使得在基因毒性应激状态下的细胞得以生存。在肝细胞癌系中, DDR1 促进 ARF6 的激活并不依赖于胶原的刺激, 而是作为衔接蛋白促进 ARF6 和 PSD4 的结合, 进而激活 ARF6 及其下游的 MAPK 信号通路, 调控肝癌细胞

的侵袭和远处转移, 而敲除 DDR1 则抑制 ARF6 的激活。在胰腺癌中, DDR1 和整合素 β 1 共同激活 p130CAS/JNK 信号通路, 使 N-钙粘着蛋白上调, 促使上皮细胞间质化 (EMT) 样的细胞扩散。然而, 目前对于 DDR1 的研究多集中于功能方面的研究, 而关于 DDR1 分子的作用底物或下游信号通路尚未完全确定, 其促进肿瘤细胞侵袭转移的具体机制仍不明确。

3 DDR1 在肿瘤组织中的表达

作为 RTKs 家族中的一员, DDR1 可在胚胎发育过程中和正常成人的肺上皮细胞、大肠内膜上皮细胞、肾上腺皮质及脑内的髓鞘和小胶质细胞中均有表达。在靶向敲除 DDR1 基因的雌性小鼠实验中, 发现小鼠胎盘和乳腺发育发生了明显缺陷, 表明 DDR1 受体降解在细胞的迁移和基质降解中有着潜在作用。

既往多个研究报道: DDR1 在一些恶性肿瘤中如乳腺癌、食管癌和前列腺癌等恶性肿瘤中表达明显增高, 提示其在恶性肿瘤细胞的发生发展及侵袭过程中具有重要作用。Zhu 等^[2] 应用 RT-PCR 和 Western blot 检测发现 DDR1 过表达可增强乳腺癌细胞的侵袭和黏附能力, 反之敲除 DDR1 可抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。Sugimoto 等^[3] 应用免疫组化证实, 食管鳞癌恶性程度越高、伴有淋巴结转移, DDR1 阳性表达率越高, 提示 DDR1 高表达与食管癌较高的侵袭性和不良预后有关, 并认为 DDR1 蛋白高表达可能对食管鳞癌的发生、发展及淋巴结转移有重要影响, 可作为肿瘤诊断、治疗和预后判断的参考指标。Azizi Reza 等^[4] 应用免疫组化和流式细胞技术等研究发现, DDR1 在前列腺癌细胞中高表达, 而在正常上皮细胞中检测不到, 并得出以 siRNA 为靶点的 DDR1 有利于抑制前列腺癌细胞上皮-间质转化和诱导细胞凋亡的结论。

4 DDR1 与 HCC

越来越多的研究证实 HCC 存在不同的分子亚型, 其分子特征在影响 HCC 的生物学行为方面起着关键作用, 从分子水平研究 HCC 的本质特征也许能获取更多有价值的资料。过去十年我们建立了规范化网络信息系统支持的肝癌标本库, 应用 Affymetrix Human Geome U133 plus 2.0 基因表达谱芯片在人类全基因组范围内检测, 比较早期复发 (ER) 和晚期复发 (nER) HCC 组织中基因表达谱的差异。应用 SAM 软件分析两组标本的基因表达谱数据, 其中显示差异的探针数目有 1646 个, 然后设定 FDR \leq 20% 进行筛选, 差异表达更为显著的探针有 41 个, 分别代表 24 个已知功能的基因, 其中包括 DDR1 基因。随后应用实时荧光定量 PCR 和免疫组织化学方法在 HCC 中进行验证, 结果显示 ER 组 DDR1 的基因相对定量值和阳性表达率均明显高于 nER 组。因此作者推测 DDR1 的表达与肿瘤的恶性程度和复发倾向有关, 故而提出 DDR1 可作为 HCC 潜在的分子标志物, 同时也可能为 HCC 的靶向治疗提供新的方向。但由于纳入研究的病例数过少, 以至于难以得出确切的结论, 还需进一步扩大样本量证实。

肿瘤细胞突破组织屏障首先需破坏细胞外基质 (extracellularmatrix, ECM), 而这一过程需要多种蛋白酶的调节。研究发现基质金属蛋白酶 (matrix metallo proteinase, MMP) 在降解 ECM 成分方面发挥着重要作用, 在 MMPs 家族中, MMP-2 和 MMP-9 的表达与肿瘤分期、有无淋巴结转移及生存期密切相关。Park 等^[5]应用细胞培养和 Western blot 技术证实了 DDR1 在 HCC 细胞系 (HLE、Huh-7、HepG2、SH-J1) 中呈高表达。并应用细胞转染技术在 HLE、Huh-7 细胞系中转染 DDR1 的两个亚型: DDR1a 和 DDR1b, 联合酶谱法、迁移实验及浸润实验观察 MMP-2、MMP-9 在 HCC 中的表达与 DDR1a 和 DDR1b 表达的关系。结果发现, MMP-2、MMP-9 在 HLE 和 Huh7 细胞系中的表达与 DDR1a 和 DDR1b 的表达呈正相关。更重要的是, 激活形式的 MMP-2 在 DDR1a 和 DDR1b 过表达的 HLE 细胞系中表达显著增高, 而在 Huh7 细胞系中表达不升高。其实验结果表明 I 型胶原和 MMP-2、MMP-9 之间侵袭性相关通路是由 DDR1 介导的, 尤其在 MMP-2 激活的 HLE 细胞系中。因此作者认为, DDR1 在 HCC 中高表达可增加肿瘤的浸润迁移能力, 尤其发生在与 I 型胶原结合的 HLE 和 Huh-7 细胞系中, 而侵袭迁移的强度与 MMP-2 和 MMP-9 的活化和分泌有关。这种假设是否成立以及 DDR1a 和 DDR1b 介导 HCC 侵袭转移的具体信号通路尚需进一步研究证实。

5 小结与展望

DDR1 是一种新近发现的 RTKs 分子, 其广泛低表达于正常成人的多种组织上皮细胞, 参与调控胶原的合成和降解, 并与特定的胶原配体结合后激发细胞内产生一系列反应。在既往的肿瘤动物模型中研究发现, DDR1 高表达或基因功能性突变可增加肿瘤的发生率, 而敲除 DDR1 基因则可抑制肿瘤的发生和转移; 在 HCC

的研究中我们也发现 DDR1 基因相对定量值和阳性表达率越高, 早期复发率越高, 提示 DDR1 在 HCC 的浸润迁移过程中起着重要作用, 部分机制可能是胶原激活 DDR1 后上调 MMP, 促进细胞外基质的降解, 以利于肿瘤发生转移。鉴于 DDR1 的这些特点, 若能生产出绑定在 DDR1- 胶原识别位点的单克隆抗体, 或是选择性阻断 DDR1 的下游信号通路, 则有助于预防肿瘤细胞的浸润转移。值得欣慰的是, 近期已开发出多种酪氨酸激酶靶向抑制剂, 甚至有些药物已进入 II 期临床试验, 这些结果都让我们看到了 DDR1 作为肿瘤靶向治疗的前景和希望。

参考文献

[1] JOHNSON J D,EDMAN J C,Rutter WJ.A receptor tyrosine kinase found in breast carcinoma cells has an extracellular discoidin I-like domain[J].P NATL ACAD SCI USA,1993,90(12):5677-5681.
 [2] 朱明珍,许瑾,徐静.miR-183 靶向 DDR1 调控乳腺癌细胞迁移侵袭的分子机制[J].中国老年学杂志,2020,40(14):3101-3105.
 [3] SUGIMOTO K,Ito T,WOO J,et al.Prognostic Impact of Phosphorylated Discoidin Domain Receptor-1 in Esophageal Cancer[J].J Surg Res,2019, (235): 479-486.
 [4] REZA A, FARANAK F, MAHMOUD A, et al.Down-Regulation of DDR1 Induces Apoptosis and Inhibits EMT through Phosphorylation of Pyk2/MKK7 in DU-145 and Lncap-FGC Prostate Cancer Cell Lines[J]. Anticancer agents Med Chem,2020,20(8):1009-1016.
 [5] PARK H S,KIM K R,LEE H J,et al.Overexpression of discoidin domain receptor 1 increases the migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells in association with matrix metalloproteinase[J].Oncol Rep,2007,18(6):1435-1441.

(上接第 93 页)

采取 SPSS 25.00 进行核算, 计数资料以 % 表示, 以 χ^2 检验; 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 形式表示, 以 t 进行检验, $P < 0.05$, 即可证实本次所得数据具有统计学价值。

2 结果

2.1 对比两组健康知识掌握评分

参照组健康知识掌握评分 (64.5 \pm 8.92) 分, 实验组 (76.23 \pm 6.42) 分, 实验组健康知识掌握评分高于参照组, 组间对比存在差异 ($t=7.0798, P=0.0001$)。

2.2 对比两组满意率

实验组满意率高于参照组, 组间对比存在同质性 ($P < 0.05$), 详细数据见表 1。

表 1 对比两组满意率

组别	例数	很满意	尚可	不满意	总满意率
实验组	44	31 (70.45)	10 (22.73)	3 (6.82)	41 (93.18)
参照组	44	10 (22.73)	19 (43.18)	15 (34.09)	29 (65.91)
χ^2	—	—	—	—	10.0571
P	—	—	—	—	0.0015

3 结论

急性心肌梗死作为常见的心脏疾病, 具有高死亡率、高发病率, 进展快且急, 并发症较多。老年患者是高危群体, 但根据相关数据统计, 急性心肌梗死的发病人群已经逐渐年轻化。急性心肌梗死的心电图会出现改变, 心肌酶高以及胸骨疼痛等, 患者会出现较多的负面情绪, 对康复和治疗造成影响。所以, 对患者进行有效的护理干预具有重要意义。

临床上对患者实施常规护理^[4], 对基础的护理进行加强, 但是实际中发现, 尽管可提高治疗效果, 但患者对疾病的认知度和治疗方式认知不够, 对疾病相关知识会存在错误认知, 在一定程度上对治疗遵从性产生影响。

健康教育作为治疗和护理有效且重要的组成^[5], 可以改变患者的错误认知以及不良生活习惯, 提升患者的健康意识。护理人员对患者进行健康教育, 可以提高对疾病的认知程度, 且也能够提高健康自护能力、自我保健意识等, 有利于机体恢复健康, 且也能够预防病情复发。健康教育在控制病情的基础上开展饮食和康复锻炼指导, 可以确保患者运动量和饮食结构的合理性, 能够及时调整患者的不良情绪, 使其保持良好心态面对治疗, 根据患

者在病情的不同阶段, 进行心理干预, 建立对治疗的信心^[6]。

综上所述, 在急性心肌梗死护理干预中实施健康教育, 可以提高患者对健康知识的了解, 主动配合治疗, 减少并发症的产生, 拉近医患关系, 满意率明显提高, 值得临床推广应用。

参考文献

[1] 王芳,汪媚,孙小霞,等.护理干预对急性心肌梗死患者实施健康教育的效果分析[J].实用临床护理学电子杂志,2020,5(20):186.
 [2] 孙玉娟,杨小玲.健康教育在急性心肌梗死护理干预中的应用[J].中西医结合心血管病电子杂志,2019,7(28):144,148.
 [3] 廖爱平.健康教育在急性心肌梗死护理干预中的应用价值[J].心血管病防治知识,2019(6):8-10.
 [4] 李凤连.健康教育在急性心肌梗死护理干预中的效果观察[J].基层医学论坛,2019,23(3):396-397.
 [5] 康娟梅.急性心肌梗死护理干预中应用健康教育的效果分析[J].人人健康,2017(18):138.
 [6] 陈玲玲.急性心肌梗死护理干预中应用健康教育的效果研究[J].实用临床护理学电子杂志,2016,1(12):48,50.