

## 前列腺癌治疗新靶点——hedgehog 通路

黄海强,李慧梁,汤健,苏娟,张卫东(第二军医大学天然药物化学教研室,上海 200433)

**摘要** Hedgehog(Hh)通路是调控动物发育的一系列信号串联。Hh 信号在胚胎形成时期最为活跃,然而,在成体组织和器官的细胞中 Hh 通路的异常激活将会引起各种疾病和肿瘤。近年来研究发现 Hh 通路在前列腺发育和前列腺癌的发生中具有重要作用;Hh 信号对肿瘤细胞的生存、增殖和转移是必须的。从藜芦属植物中分离得到的一种甾体生物碱西洛帕明能特异性抑制 Hh 通路,具有显著的抗肿瘤活性。目前研究发现西洛帕明可通过阻断 Hh 通路诱导体外和体内的前列腺癌细胞退化并减少扩散。因此,Hh 通路为前列腺癌治疗的药物开发提供了新的靶点。

**关键词** Hedgehog 通路;前列腺癌;西洛帕明;抗肿瘤

**中图分类号**:R979.1

**文献标识码**:A

**文章编号**:1006-0111(2008)04-0249-03

Hedgehog(Hh)通路是动物发育过程中重要的细胞间通讯。在胚胎发生过程中 Hh 以组织特异的方式促进细胞的增殖和分化,决定胚胎模式的形成等<sup>[1]</sup>。然而,在成体组织和成熟器官中 Hh 通路的异常激活将导致某些肿瘤的发生,例如基底细胞癌,髓母细胞癌,胃和上消化道癌,肺癌等<sup>[2]</sup>。近年来研究发现 Hh 通路对于动物前列腺的发育和前列腺癌的发生有密切的联系。本文就 Hh 通路对前列腺发育的调节,与前列腺癌发生的关系以及 Hh 通路阻断剂西洛帕明作一综述。

### 1 Hedgehog 通路概述

Hedgehog(Hh)通过短距离和长距离信号传递方式调控不同类型组织的发育<sup>[3]</sup>,其调节功能非常复杂。该信号通路首先在果蝇中发现,随后在脊椎动物中被证实,并进行了广泛和深入的研究。

Hedgehog 是编码一系列分泌蛋白的基因家族,在果蝇和其他无脊椎动物中只有一种 Hh 基因,在哺乳动物中有三种同源基因:Sonic Hh(Shh),Indian Hh(Ihh)和 Desert Hh(Dhh)。Hedgehog 蛋白是一种分泌蛋白,具有自我剪切功能。Hh 前体蛋白通过自裂解去掉 C-端并在此接上胆固醇分子成为具有信号转导功能的蛋白,尔后 N-端半胱氨酸脂酰化成为成熟单体分泌型蛋白<sup>[4]</sup>。Hh 的释放受到 Dispatched(Disp)和 Tout-velu(Ttv)的调节<sup>[5,6]</sup>。Hh 效应细胞膜上有两种受体,即 Patched(Ptch),Smoothered(Smo)。受体 Ptch,12 跨膜蛋白,能与 Hh 配体直接结合。在哺乳动物中存在两

种 Ptch 家族成员,即 Ptch1 和 Ptch2,它们均能结合所有的 Hh 配体(Shh、Ihh 和 Dhh)。受体 Smo,7 跨膜蛋白,属于 G 蛋白偶连的受体。在缺少 Hh 配体时,Ptch 抑制 Smo 的功能;Hh 配体存在时,Ptch 与 Hh 结合,Smo 受 Ptch 的抑制解除,Hh 通路开始激活<sup>[7]</sup>。Hh 与 Ptch 的结合受到某些蛋白的调节,例如 Hip 通过与 Hh 结合从而抑制 Hh 与受体结合<sup>[8]</sup>,Gas1 通过隔离 Hh 从而减少 Hh 与受体结合的数量<sup>[9]</sup>;相反,另外一些调节因子可以促进 Hh 与受体结合,例如 Cdon/Cdo 和 Boc<sup>[10]</sup>。

Smo 蛋白受体是 Hh 通路中的关键组分,当 Ptch 对 Smo 的抑制作用解除,活化的 Smo 将信号传到细胞内,激活细胞内的转录因子,即 Gli 基因家族。在脊椎动物中存在 3 种 Gli 蛋白,Gli1,Gli2 和 Gli3。在缺少 Hh 配体时,Gli 蛋白的羧基端被蛋白激酶磷酸化形成缺乏 C-端序列的抑制形式,抑制表达<sup>[11]</sup>。抑制因子 fused(sufu)是通路的又一负调节因素,通过与 Gli 结合抑制 Hh 目的基因的激活<sup>[12]</sup>。因此,Gli 蛋白的活性决定了 Hh 目的基因的转录状态。

### 2 Hedgehog 通路与前列腺的发育

在胚胎发育过程中,Hh 决定细胞的命运和胚胎模式的形成,并且在调节细胞的增殖、分化以及其他众多生理功能中起重要作用。3 种 Hh 基因功能不相重叠,Ihh 主要参与骨的形态发生;Dhh 在睾丸的发育中起关键作用;Shh 的作用最为广泛,参与了肺、皮肤、四肢、神经系统、生殖系统等众多发育过程<sup>[1]</sup>。

在前列腺胚胎发育过程中,Shh 也发挥了重要的作用。采用小鼠和大鼠的动物模型发现 Shh 参与

调节哺乳动物前列腺胚胎发育过程中的诱导、增殖、分化。大量的研究发现 Shh 对前列腺胚胎发育过程中导管的形成是必须的。前列腺的发育初期,泌尿生殖窦的上皮细胞侵入周围的间质细胞,形成上皮芽。最终,这些上皮芽发育形成前列腺导管,并延长分支形成成熟的前列腺。研究发现 Shh 在泌尿生殖窦的上皮中表达,其表达部位主要集中在上皮芽周围<sup>[13]</sup>。在上皮芽形成前列腺导管的过程中,Shh 的表达渐渐增多<sup>[13-15]</sup>。在人胚胎的前列腺中同样发现有 Shh 的表达。在泌尿生殖窦上皮中,尤其是新的上皮芽中,Shh 的表达明显增多<sup>[16]</sup>。进一步的研究发现,泌尿生殖窦上皮中的 Shh 可能以旁分泌机制诱导 Hh 通路下游组分(包括 Ptch1, Gli1)在其邻近的间质中的表达<sup>[13-15]</sup>。Lipinski 等提出一个 Hh 信号传导模型,即 Hh 信号源自上皮,其靶标为邻近的间质,通过在细胞中表达 Ptch1 和 Gli1,促进间质细胞的增殖和分化,同时又反过来驱动前列腺上皮的增殖<sup>[17]</sup>。研究发现 Shh 的表达以及 Hh 通路的激活对前列腺胚胎发育过程中导管的形成是必不可少的。采用 Shh 抗体或 Hh 通路阻断剂西洛帕明作用于鼠泌尿生殖窦,产生短期的 Shh 信号抑制,发现前列腺导管的形成受阻<sup>[13,14,18]</sup>。同时,在敲除了 Shh 基因的转基因小鼠中也观察到前列腺导管形成障碍<sup>[14]</sup>。

其他的 Hh 蛋白在前列腺发育中的作用尚不清楚。采用 RT-PCR 的方法检测 Dhh 和 Ihh 在前列腺发育过程中表达,没有发现 Dhh 的表达,而 Ihh 的表达量极低<sup>[19]</sup>。

### 3 Hedgehog 通路与前列腺癌

Hedgehog 通路控制着胚胎的发育以及成熟组织的内环境稳定。然而,该通路在成体组织和器官中的异常激活将导致肿瘤的发生。肿瘤中 Hh 的异常激活分为两类:Hh 通路组成部分的突变和 Hh 配体的过度表达。Hh 通路突变又称为配体非依赖的激活,指信号通路组成部分如 Ptch1、Smo 或 Sufu 突变所启动的 Hh 通路的激活。Hh 通路组成部分的突变在一些肿瘤中被确认。Hh 通路的负调节因子 Ptch1 的突变将导致痣样基底细胞癌综合征的发生,这种疾病最终发展为多种基底细胞癌(BCC),并且病人容易患上髓母细胞瘤和横纹肌肉瘤<sup>[20]</sup>。Ptch1、Smo 和 Sufu 的突变亦在散发的髓母细胞瘤中存在<sup>[21,22]</sup>。Hh 配体的过度表达又称为配体依赖的激活,指配体 Hh 与受体 Ptch1 结合诱导原癌基因 Smo 的激活,引起 Hh 通路的激活。近年来研究发现在一些人肿瘤活体组织和细胞株中存在 Hh 配体

过度表达引起的 Hh 通路异常激活,包括小细胞肺癌<sup>[23]</sup>、胃和上消化道癌<sup>[24]</sup>、胰腺癌<sup>[25]</sup>等。

Shh 信号通路在前列腺胚胎发育中是必须的,而且,在别的类型肿瘤中,Hh 信号通路的异常调节已被证实,提示 Hh 通路的改变可能在前列腺癌的发生中起作用。近年来研究发现前列腺癌与 Hh 通路的异常激活相关。比较正常组织和肿瘤组织中 Shh 蛋白的表达水平,发现在前列腺癌中 Shh 蛋白表达的平均水平要高于正常前列腺组织。尽管在良性和恶性前列腺上皮细胞中均存在 Shh 蛋白的表达,Ptch1 和 Gli1 在转移性前列腺癌中的表达异常活跃。最为重要的一点是,在几乎所有的转移性前列腺癌或恶性肿瘤标本中发现 Shh、Ptch1 和 Gli1 的过量表达。对 5 个不同的人前列腺癌细胞系(LNCaP, PC3, DU145, TSU 和 22RV1)进行研究,结果在所有的细胞系中发现明显的 Ptch1 和 Gli1 高表达<sup>[26-28]</sup>。对啮齿动物的 6 个细胞系进行研究,确定了在转移性肿瘤细胞系中 Hh 通路异常激活<sup>[26]</sup>。转移性前列腺癌的又一重要特征是干细胞标记物 Nestin 的表达。在人前列腺细胞系中 Nestin 的表达可被西洛帕明(Hh 通路阻断剂)抑制,说明了 Hh 通路对于干细胞具有调控作用,同时表明了转移性前列腺癌中 Hh 通路的异常激活<sup>[26]</sup>。

### 4 Hedgehog 通路阻断剂——西洛帕明

西洛帕明是一种来源于藜芦属植物的甾体生物碱。它能与 hh 信号通路中的 Smo 结合进而改变 Smo 构型,抑制 Hh 信号通路<sup>[29]</sup>。西洛帕明作为 Hh 信号通路阻断剂,在前列腺癌的研究中显示出明显的抗肿瘤活性。研究者采用西洛帕明与人前列腺癌细胞系进行实验,发现了癌细胞的增殖受到明显的抑制,并且细胞的活力下降,凋亡加速<sup>[26-28]</sup>。而那些 Gli1 异位表达的前列腺癌细胞对西洛帕明不敏感,没有产生凋亡或活力下降<sup>[26]</sup>。来源于 PC3 和 22RV1 细胞系的异植体肿瘤用西洛帕明治疗,发现肿瘤细胞在体内生长变慢,甚至癌细胞开始退化<sup>[26]</sup>。表明西洛帕明无论体内还是体外都可通过 Hh 通路诱导细胞凋亡和增殖阻断。Hh 通路的激活与前列腺癌的转移性有关<sup>[26]</sup>。用西洛帕明作用于具有高的 Shh 通路活性的 AT6.3 细胞系异植体,发现转移性肿瘤细胞数量大大减少。因此,西洛帕明可通过阻断 Hh 通路,诱导异植体肿瘤在体内生长减慢,并且可导致肿瘤的完全退化和扩散减少。

### 5 小结

Hedgehog 信号通路与前列腺发育和前列腺癌

的发生和发展存在密切联系。Hedgehog 信号通路的激活对前列腺癌细胞的生存增殖和转移是必须的;采用西洛帕明通过阻断 Hh 通路可抑制体外前列腺肿瘤细胞的增殖,加速细胞的凋亡;并且可诱导异植体肿瘤在体内生长减慢,退化和减少扩散。西洛帕明对肿瘤细胞的作用特异,毒副作用几乎没有,为前列腺癌的治疗开辟了新的方向。然而,西洛帕明在植物中分布较少且含量极低,化学合成亦有困难,寻找合适的相关衍生物或具有相同作用靶点的化学合成药物成为开发利用西洛帕明的关键所在。

#### 参考文献:

- [1] Jia J, Jiang J. Decoding the Hedgehog signal in animal development[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2006, 63 (11):1249.
- [2] Evangelista M, Tian H, Sauvage FJ. de. The Hedgehog Signaling Pathway in Cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12 (10):5924.
- [3] Huangfu D, Anderson KV. Signaling from Smo to Ci/Gli: conservation and divergence of Hedgehog pathways from *Drosophila* to vertebrates[J]. *Development*, 2006, 133 (1):3.
- [4] Mann RK, Beachy PA. Novel lipid modifications of secreted protein signals[J]. *Annu Rev Biochem*, 2004, 73 (7):891.
- [5] Burke R, Nellen D, Bellotto M, et al. Dispatched, a novel sterol-sensing domain protein dedicated to the release of cholesterol-modified hedgehog from signaling cells[J]. *Cell*, 1999, 99 (7): 803.
- [6] Bellaiche Y, The I, Perrimon N. Tout-velu is a *Drosophila* homologue of the putative tumour suppressor EXT-1 and is needed for Hh diffusion[J]. *Nature*, 1998, 394 (6688):85.
- [7] Kaldron D. Transducing the hedgehog signal[J]. *Cell*, 2000, 103 (3):371.
- [8] Chuang PT, McMahon AP. Vertebrate Hedgehog signaling modulated by induction of a Hedgehog-binding protein[J]. *Nature*, 1999, 397 (6720):617.
- [9] Lee CS, Buttiitta L, Fan CM. Evidence that the WNT-inducible growth arrest-specific gene 1 encodes an antagonists of sonic hedgehog signaling in the somite[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98 (20):11347.
- [10] Tenzen T, Allen BL, Cole F, et al. The cell surface membrane proteins Cdo and Boc are components and targets of the Hedgehog signaling pathway and feedback network in mice[J]. *Dev Cell*, 2006, 10 (5):647.
- [11] Chen Y, Gallaher N, Goodman RH, et al. Protein kinase A directly regulates the activity and proteolysis of cubitus interruptus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95 (5):2349.
- [12] Cheng SY, Bishop JM. Suppressor of Fused represses Gli-mediated transcription by recruiting the SAP18-mSin3 corepressor complex[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (8):5442.
- [13] Lamm ML, Catbagan WS, Laciak RJ. et al. Sonic hedgehog activates mesenchymal Gli1 expression during prostate ductal bud formation[J]. *Dev Biol*, 2002, 249 (2):349.
- [14] Berman DM, Desai N, Wang X, et al. Roles for Hedgehog signaling in androgen production and prostate ductal morphogenesis [J]. *Dev Biol*, 2004, 267 (2): 387.
- [15] Pu Y, Huang L, Prins GS. Sonic hedgehog-patched Gli signaling in the developing rat prostate gland: lobe-specific suppression by neonatal estrogens reduces ductal growth and branching[J]. *Dev Biol*, 2004, 273 (2): 257.
- [16] Barnett DH, Huang HY, Wu XR, et al. The human prostate expresses sonic hedgehog during fetal development [J]. *Urol*, 2002, 168 (5): 2206.
- [17] Lipinski RJ, Cook CH, Barnett DH, et al. Sonic hedgehog signaling regulates the expression of insulin-like growth factor binding protein-6 during fetal prostate development [J]. *Dev Dyn*, 2005, 233 (3):829.
- [18] Freestone SH, Marker P, Grace OC, et al. Sonic hedgehog regulates prostatic growth and epithelial differentiation[J]. *Dev Biol*, 2003, 264 (2):352.
- [19] Podlasek CA, Barnett DH, Clemens JQ. Prostate development requires Sonic hedgehog expressed by the urogenital sinus epithelium[J]. *Dev Biol*, 1999, 209 (1): 28.
- [20] Dahmane N, Lee J, Robins P, et al. Activation of the transcription factor Gli1 and hedgehog signaling pathway in skin tumours [J]. *Nature*, 1997, 389 (6653):876.
- [21] Taylor MD, Liu L, Raffel C, et al. Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma[J]. *Nat Genet*, 2002, 31 (3):306.
- [22] Raffel C, Jenkins RB, Frederick L, et al. Sporadic medulloblastomas contain PTCH mutations[J]. *Cancer Res*, 1997, 57 (5): 842.
- [23] Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG, et al. Hedgehog signaling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer[J]. *Nature*, 2003, 422 (6929):313.
- [24] Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A, et al. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours[J]. *Nature*, 2003, 425 (6960):846.
- [25] Thayer SP, Magliano MP, Heiser PW, et al. Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis [J]. *Nature*, 2003, 425 (6960):851.
- [26] Karhadkar SS, Bova GS, Abdallah N, et al. Hedgehog signalling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis [J]. *Nature*, 2004, 431 (7009): 707.
- [27] Sanchez P, Hernandez A, Stecca B, et al. Inhibition of prostate cancer proliferation by interference with Hedgehog-Gli1 signaling [J]. *Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(34): 12561.
- [28] Sheng T, Li C, Zhang X, et al. Activation of the hedgehog pathway in advanced prostate[J]. *Mol Cancer*, 2004, 3 (8): 29.
- [29] Chen JK, Taipale J, Cooper MK, et al. Inhibition of Hedgehog signaling by direct binding of cyclopamine to Smoothened [J]. *Genes Dev*, 2002, 16 (21):2743.

收稿日期:2007-03-20