

给予温、凉的半流质饮食,忌热和硬质饮食。并给予口腔清热解毒剂,如金果饮,每次 15 ml,每日 3 次。对个别耐受性差的患者,在进食前可遵医嘱给予表面麻醉药,如庆大霉素 8 万 U 加 0.5% 普鲁卡因 10 ml,徐徐咽下,服药后不再饮水,以免冲淡药物,数分钟后疼痛症状一般可以暂时缓解,可进饮食。

2.2.4 进食困难者按医嘱给予鼻饲,如果插管困难可考虑静脉营养,以维持机体的营养需要。有些患者进食后有呕吐,要特别注意呕吐物的性质及量,并及时报告医生处理。

2.3 放疗后的饮食护理

2.3.1 放疗后要依据食管 X 线的表现和食管通畅情况来选择饮食种类。由于个别患者治疗结束后半年内仍有放射性食管炎反应,所以仍以软食为主,切忌食用硬、炸及刺激性食物,以免引起疼痛和穿孔。

2.3.2 放疗后由于肿瘤的消退及纤维组织的增生,使本来富有弹性的食管壁弹性丧失,变得僵硬,组织脆性增加。因此,要嘱咐患者仍不可大口吞咽,应小口细嚼慢咽,不进硬质或有渣饮食,以免使食管黏膜损伤加重引起食管梗阻和出血穿孔。

2.4 并发症的饮食护理

2.4.1 食管癌患者发生穿孔出血后,给予对症支持治疗,禁食,暂停放疗。

2.4.2 病情许可时,遵医嘱给予鼻饲,定时定量进食,每日 5~6 次。不宜过饱,不宜餐后平卧,否则易引起食物反流。进食前后均需用温开水冲洗胃管。食物温度 40~42 °C,以免过高温度烫伤食管黏膜,或使放疗后初愈的黏膜再受损伤。本组有 1 例患者

因插管困难,遵医嘱给予静脉营养,维持患者必要的能量。

3 讨论

通过对食管癌放疗患者的饮食护理,我们体会到:①心理护理十分重要,只有使患者心情愉快,解除顾虑,积极配合,才能使治疗顺利进行;②普通外放射容易引起不同程度的食管炎,大多数患者在治疗后 10 天左右出现。症状轻者可不予处理,症状重者,可给予抗炎对症治疗,1 周后症状可逐渐消失。本组病例中都有不同程度的放射性食管炎,发生后都给予抗生素及激素治疗,症状逐渐消失;③饮食护理在本病全程治疗过程中,对部分患者的预后起着决定性的作用。本组病例中有 2 例患者,在治疗过程中由于食管反应轻,忽视饮食护理,进食硬质饮食(如咸鱼、干饭等),引起食管穿孔及出血。食管癌穿孔目前尚无有效的治疗方法,预后极差。另 19 例患者食管反应明显,主动配合治疗和护理,进食慎重,放疗完成后 2~5 个月后症状基本消失。由此可见,饮食护理在食管癌放射治疗过程中具有重要的作用,放疗前要做好患者的健康教育,放疗过程中要配合医生注意观察患者病情变化,以便及时给予支持对症,使患者能顺利完成治疗。

参考文献:

[1] 许秀兰:食管癌放疗病人的饮食护理[J].临床医学,1999,19(6):59.

收稿日期:2005-07-06 修回日期:2005-08-10

本文编辑:孙立杰

Maspin 在肿瘤抑制中的作用*

卓越 综述,张敬川 审校

(徐州医学院附属医院肿瘤科,江苏 徐州 221002)

摘要: Maspin 基因是一种肿瘤抑制基因,编码一种丝氨酸蛋白酶抑制剂。近年来的研究表明, Maspin 基因在抑制细胞的运动、增殖和肿瘤新生血管生成等方面起到重要作用,进而抑制肿瘤的发生和发展。 Maspin 基因在肿瘤进展过程中广泛而强烈的作用为肿瘤的诊断及治疗评估提供了新的途径。现将 Maspin 基因对肿瘤的抑制作用作一综述。

关键词: Maspin; 肿瘤; 抑癌基因

中图分类号: R730.231⁺.9; Q786

文献标识码: A

文章编号: 1000-2065(2005)05-0467-04

Maspin(mammary-serpin)基因是 1994 年 Zon^[1]等使用消减杂交(subtractive hybridization)的方法

在对正常乳腺组织和乳腺癌组织进行比较时发现的,并且发现用该基因转染乳腺癌细胞系

* 作者简介:卓越(1981-),男,江苏宿迁人,在读硕士研究生。

MDA2MB2435 后,可降低癌细胞在裸鼠体内的成瘤能力,降低其穿透基底膜及转移的能力。近年来,越来越多的证据表明, Maspin 基因在肿瘤的发生、进展中起到重要的作用。Maspin 基因具有调节细胞浸润、增加细胞的黏附力、降低细胞的运动能力的功能,而且能够抑制肿瘤细胞的生长,诱导其凋亡,抑制肿瘤新生血管的生成等,是具有抑癌基因性质的丝氨酸蛋白酶抑制剂基因。

1 Maspin 基因的结构和定位

Maspin 基因位于染色体 18 q 21.3, 其 cDNA 序列全长共 2 584 bp, 其中在 5' 端有无转录功能的核苷酸 75 个, 在 3' 端有 1 381 个。在其 -COOH 端附近有一个活性位点环(reactive site loop, RSL), 该区域在 serpin 家族中高度保守, 其变异可以影响 Maspin 蛋白的各种正常功能。在 Maspin 基因的 84~112 核苷酸处有 1 个胶原结合区域, 在其启动子区域存在一个 p53 结合位点, p53 基因可直接结合到该位点对 Maspin 基因的启动子和 mRNA 表达进行调节。

Maspin 基因编码一种含有 375 个氨基酸残基的蛋白质, 该蛋白质属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族一卵清蛋白亚族, 包括 1 个与氨基结合的终末蛋氨酸和 1 个羧基结合的终末缬氨酸, 其内存在的 8 个半胱氨酸残基, 可以组成 2 个或者更多的二硫键以形成稳定的三级结构^[2]。Maspin 蛋白主要定位于细胞浆, 也可定位于细胞表面^[3]。Mohsin^[4] 报道其在浸润性乳腺癌细胞核和细胞浆均有表达, 胞核内的 Maspin 蛋白表达与雌激素和孕激素呈负相关, 提示预后较好, 胞浆内出现则提示预后不良。

2 Maspin 基因在肿瘤抑制方面所起的作用

已有的研究证明, Maspin 基因在胚胎发育、滋养细胞浸润、以及肿瘤发生及进展中都起到一定的作用。由于 Maspin 基因最初是在对正常乳腺上皮和乳腺癌的比较中发现的, 被认为具有抑癌基因的性质, 所以, 此后大多数的研究集中在 Maspin 基因在各种肿瘤中表达的变化、其中的机制以及临床意义上。

2.1 Maspin 能够诱导细胞凋亡 Liu J^[5] 等发现 Maspin 基因能够增加细胞对凋亡刺激的敏感性, 并且 Bax 信号通路在 Maspin 基因的凋亡诱导作用中起关键作用。在转染 Maspin 基因的乳腺癌和前列腺癌细胞中 Bax 的表达上调, 而在使用针对 Bax 的小干扰 RNA 处理后, Maspin 转染细胞对药物诱导的

凋亡表现出抵抗。同时发现, 在凋亡诱导过程中, Maspin 转染细胞中的大量 Bax 从细胞浆中转移到线粒体中, 而从线粒体中释放的细胞色素 C 和 Smac/DIABLO 在 Maspin 转染细胞中较对照细胞明显增高。Maspin 转染细胞中 caspase-8 和 caspase-9 的功能也有不同程度的增强。Wang MC^[6] 在对正常胃黏膜、肠化生胃黏膜和胃癌的分析中发现, Maspin 基因的表达与 Caspase-3 的表达正相关。

2.2 Maspin 有抑制肿瘤转移的作用 Maspin 可以通过降低肿瘤细胞运动和侵袭的能力, 增加细胞间的黏附性等而减少肿瘤细胞转移的发生。

Odero-Marrah VA^[7] 将 MDA2MB2435 和 MDA2MB2231 乳腺癌细胞系用重组 Maspin 基因处理 25 h 后发现其通过层粘连蛋白(laminin)、IV 型胶原、明胶基质的能力比对照组细胞降低了 96%, 而这种抑制作用可以被 Maspin 蛋白的抗体所阻断。Shi 等^[8] 把具有较高侵袭性和转移性的乳腺癌细胞 TM40D 植入小鼠, 发现超过 75% 的小鼠乳腺腺体内的肿瘤细胞发生了侵袭和转移; 而用 Maspin 基因转染 TM40D 细胞后, 肿瘤的生长和转移被明显抑制。将重组 Maspin 基因转染乳腺癌细胞, 可以增加细胞表面 $\alpha 5$, $\alpha 3$ 黏附素水平, 增加细胞对“FN”基质的选择性黏附, 而用抗 $\alpha 5$ 的抗体处理 Maspin 转染过的肿瘤细胞, 发现 Maspin 对细胞侵袭能力的抑制作用明显减弱^[9]。

在临床试验中, 同样可以观察到 Maspin 的表达与肿瘤的侵袭和转移之间的关系。Ito R 等^[10] 在研究中发现, Maspin 基因在正常胃黏膜腺体细胞和上皮细胞中表达, 在胃癌和腺瘤中的丢失分别达 71% (71/100) 和 19% (4/21), 而且丢失频度与组织学类型、肿瘤分期及浸润深度明显相关, 表明 Maspin 基因的丢失在胃癌的发生、进展中起到一定的作用。Zheng HC 等^[11] 在对胃正常黏膜、增生黏膜和肿瘤组织中的 Maspin 表达情况进行研究得到相似的结论, 认为 Maspin 基因的表达强度与肿瘤的浸润深度和转移之间存在明显的负性相关。

2.3 Maspin 对新生血管的抑制作用 研究表明, 具有丝氨酸家族结构或者相似结构的许多蛋白都可以通过调节新生血管的生成来影响肿瘤的生长。Maspin 基因在抑制肿瘤新生血管的生成中具有强烈而独特的作用。Maspin 基因能够直接抑制培养基中血管内皮细胞向碱性纤维生长因子和血管内皮生长因子的运动, 抑制有丝分裂和血管的生成^[12]。在将转染 Maspin 基因的人前列腺肿瘤细胞接种小鼠模型后, 发现肿瘤增长速度明显减慢, 而且肿瘤微血管

的密度明显减少;研究还发现 RSL 的变异会使 Maspin 基因丧失对纤维原细胞、角化细胞和乳腺癌细胞的转移抑制能力,但并不影响它对新生血管生成的抑制,提示 Maspin 的肿瘤抑制活性可能主要依赖其对新生血管生成的抑制能力。Friedrich M 等^[13]在对非侵袭性膀胱肿瘤的研究中发现,110 例膀胱癌样本中,83 例不同程度地表达 Maspin 基因;在 Maspin 基因表达较弱或者不表达的肿瘤样本中,单位面积内的微血管数量(MVD)明显高于 Maspin 基因(+)的样本。同样,Wang MC^[6]等在对胃癌的研究中也得到相似的结论。

Li Z^[14]在研究中发现,在体内高表达的 Maspin 基因可以活跃地诱导血管内皮细胞的凋亡。在使用重组 Maspin 基因处理后,发现肿瘤诱导的新生血管存在渗漏现象,而正常血管不受 Maspin 基因的影响。进一步的试验证明,Maspin 基因能够在体外直接诱导血管内皮细胞的凋亡,而且这种作用是 Maspin 基因所特有的。这种对凋亡的诱导伴随着 Bcl-2 家族基因的表达,而且可以被 caspase 抑制剂阻断。

3 Maspin 基因可能存在的作用机制

对 Maspin RSL 作用位点,以及启动子上 Ap-1, Ets 和 P53 位点的修饰,以及对其转录、翻译等环节的调节可对 Maspin 的作用产生调节作用。Maspin 也可以通过与激素、纤维蛋白溶解酶等相互影响发挥其抗肿瘤作用。

3.1 甲基化对 Maspin 的修饰作用 已有研究表明,在 Maspin 蛋白表达缺失的肿瘤细胞中,其基因序列和结构并没有改变,提示其表达缺失只是由于基因表达下调或者基因沉默^[13]。Domann 使用 Northern blot 方法分析发现,正常乳腺上皮细胞表达丰富的 Maspin 蛋白,而乳腺癌细胞系则不表达或者仅少量表达。进一步研究表明,正常乳腺上皮细胞的 22 个 CpG 位点中只有 1 个存在甲基化,其甲基化的程度只有 10%,而在乳腺癌细胞中,所有的 22 个甲基化位点都存在强烈的甲基化。核酸酶抵达试验证明,肿瘤细胞系的 Maspin 基因处于难以接近的位置,部分是由于基因的过甲基化造成的。Fujisawa K^[15]在对 5 种胰腺-胆管癌细胞系中 Maspin 基因表达的研究中同样发现,Maspin 基因的异常表达与其启动子甲基化密切相关;6 种肝细胞癌系中有 5 种 Maspin(-),它们的启动子上表现出广泛的甲基化和去乙酰化。

与上述结果相映成趣的是,许多试验表明,在使用 5-aza-2'-deoxycytidine (demethylation agent) 处理肿瘤细胞之后,可以出现 Maspin 的再表达。Ito R^[10]在研究中发现使用 5-aza-2'-deoxycytidine 处理 Maspin 基因表达缺失的 8 种胃癌细胞系,其中 5 种可检测到 Maspin 基因的再表达,表明甲基化在 Maspin 基因表达缺失,进而导致的肿瘤进展、侵袭中起到一定的作用。Ohike N 等^[16]使用荧光素酶报告系统评估 Maspin(+)的胰腺癌组织和 Maspin(-)的 PANC-1 细胞系时发现,Maspin 基因的启动子都被激活。使用 5-aza-2'-deoxycytidine 和 trichostatin A 处理 PANC-1 细胞后,可以发现 Maspin mRNA 的再表达。在甲状腺癌中和膀胱癌的研究中也得到相似的结果。Primeau M 等^[17]在体外试验中证明甲基化抑制剂和脱乙酰化抑制剂在抑制肿瘤生成方面具有协同作用。5-aza-2'-deoxycytidine 和 trichostatin A 处理 MDA-MB-231 和 MDA-MB-435 人类乳腺癌细胞可以诱导 Maspin 基因的再表达,减慢肿瘤生长,而且联合作用比单独作用效果更明显。

3.2 p53 基因对 Maspin 基因的作用 有研究表明使用转染 p53 基因的腺病毒处理 MCF-7 等乳腺癌细胞系,可以诱导 Maspin 的再表达^[18]。研究同时发现,Maspin 的表达与突变型 p53 基因之间存在负相关。Oshiro MM 等^[19]认为 Maspin 基因是 p53 基因的靶基因,通常启动子上胞嘧啶的异常甲基化会导致 Maspin 基因的沉默,但是 p53 的恢复能够使 Maspin 基因的功能部分恢复,这种恢复得益于野生型的 p53 结合到 Maspin 的结合位点上,刺激组蛋白的乙酰化作用,增加启动子染色质的可接近性。而且,单独的野生型 p53 并不能够影响启动子甲基化状态,提示 p53 只能部分解除 DNA 甲基化的抑制。5-aza-2'-deoxycytidine 和 p53 的协同作用能够使基因的表达恢复到接近正常的状态。

3.3 Maspin 与激素之间的关系 Liu Z^[20]在研究中发现,Maspin 基因具有雌激素的结合位点,序列处于 -90 bp 和 +87 bp 之间。TAM 作用于 ER- α 能够在细胞培养环境中诱导激活 Maspin 启动子,Maspin N 端 A/B 模序(AF-1)对转录起到关键作用。ER- α 上 LBD-AF2 缺失或者点突变能够完全抑制 Maspin 启动子的激活。表明 TAM 诱导 Maspin 的表达需要 ER- α 与其他因子协同作用。Khalkhali-Elis Z 等将 Maspin 启动子荧光素酶报告质粒导入正常乳腺上皮细胞系(HMEC1331)和乳腺癌细胞系(MCF-7),然后使用雌激素及其拮抗剂处理这两种

细胞系,观察到 TAM 能够诱导激活 Maspin 启动子;有趣的是,抗雄激素药物也能够在这两种细胞中诱导 Maspin 的表达。Bieche I^[21]用 RT-PCR 法检测 10 例 ER(+)和 10 例 ER(-)乳腺癌,发现 Maspin 低表达和雌激素(+)之间存在相关性($P=0.0012$)。

3.4 抑制纤维蛋白溶酶原激活物的作用 尿激酶型的纤维蛋白溶解酶原激活因子在前列腺癌的转移过程中起到重要作用,它能够启动一系列蛋白水解过程,激活多种蛋白激酶和生长因子,使肿瘤细胞易于从原发位置上脱离,进入血液循环。Sheng 发现,重组 Maspin 能够和单链组织型纤维蛋白溶解酶原激活物(sctPA)结合,抑制组织型纤维蛋白溶解酶原激活物(Tpa)的活性。Cher ML^[22]等认为, Maspin 能够通过抑制前列腺癌相关的 uPA 的激活,在体外抑制前列腺癌细胞的运动和侵袭。

4 结 语

近年来对 Maspin 基因的结构、功能以及调节机制方面的研究表明, Maspin 在抑制肿瘤的生长、增加细胞的黏附性、降低肿瘤细胞的运动能力以及抑制肿瘤诱导新生血管的生成等方面具有一定的作用,同时也发现在不同肿瘤中 Maspin 的表达规律不完全一致,对其肿瘤抑制基因的地位提出置疑。但是,由于 Maspin 所具有的强烈而广泛的抗肿瘤作用,对其表达的监测、评价以及应用仍有望为恶性肿瘤的诊断以及治疗提供一种新的有效途径。

参考文献:

- [1] Zou Z, Maslow J, Hendrix MJ, et al. Maspin, a serpin with tumor-suppressing activity in human mammary epithelial cells[J]. *Science*, 1994, 263(5146): 526-529.
- [2] Sheng S, Carey J, Seftor EA, et al. Maspin acts at the cell membrane to inhibit invasion and motility of mammary and prostatic cancer cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(21): 11669-11674.
- [3] Blacque OE, Worrall DM. Evidence for a direct interaction between the tumor suppressor serpin, maspin, and types I and III collagen[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(13): 10783-10788.
- [4] Mohsin SK, Zhang M, Clark GM, et al. Maspin expression in invasive breast cancer: association with other prognostic factors[J]. *J Pathol*, 2003, 199(4): 432-435.
- [5] Liu J, Yin S, Reddy N, et al. Bax mediates the apoptosis-sensitizing effect of maspin[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(5): 1703-1711.
- [6] Wang MC, Yang YM, Li XH, et al. Maspin expression and its clinicopathological significance in tumorigenesis and progression of gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(5): 634-637.
- [7] Otero-Marrah VA, Khalkhali-Elis Z, Chunthapong J, et al. Maspin regulates different signaling pathways for motility and adhesion in aggressive breast cancer cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2003, 2(4): 398-403.
- [8] Shi HY, Zhang W, Liang R, et al. Modeling human breast cancer metastasis in mice: maspin as a paradigm[J]. *Histol Histopathol*, 2003, 18(1): 201-206.
- [9] Seftor RE, Seftor EA, Sheng S, et al. maspin suppresses the invasive phenotype of human breast carcinoma[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(24): 5681-5685.
- [10] Ito R, Nakayama H, Yoshida K, et al. Loss of maspin expression is associated with development and progression of gastric carcinoma with p53 abnormality[J]. *Oncol Rep*, 2004, 12(5): 985-990.
- [11] Zheng HC, Wang MC, Li JY, et al. Expression of maspin and kai1 and their clinicopathological significance in carcinogenesis and progression of gastric cancer[J]. *Chin Med Sci J*, 2004, 19(3): 193-198.
- [12] Zhang M, Volpert O, Shi YH, et al. Maspin is an angiogenesis inhibitor[J]. *Nat Med*, 2000, 6(2): 196-199.
- [13] Friedrich MG, Toma MI, Petri S, et al. Expression of Maspin in non-muscle invasive bladder carcinoma: correlation with tumor angiogenesis and prognosis[J]. *Eur Urol*, 2004, 45(6): 737-743.
- [14] Li Z, Shi HY, Zhang M. Targeted expression of maspin in tumor vasculatures induces endothelial cell apoptosis[J]. *Oncogene*, 2005, 24(12): 2008-2019.
- [15] Fujisawa K, Maesawa C, Sato R, et al. Epigenetic status and aberrant expression of the maspin gene in human hepato-biliary tract carcinoma[J]. *Lab Invest*, 2005, 85(2): 214-224.
- [16] Ohike N, Maass N, Mundhenke C, et al. Clinicopathological significance and molecular regulation of maspin expression in ductal adenocarcinoma of the pancreas[J]. *Cancer Lett*, 2003, 199(2): 193-200.
- [17] Primeau M, Gagnon J, Momparler RL. Synergistic antineoplastic action of DNA methylation inhibitor 5-aza-2'-deoxycytidine and histone deacetylase inhibitor depsipeptide on human breast carcinoma cells[J]. *Int J Cancer*, 2003, 103(2): 177-184.
- [18] Nakashima M, Ohike N, Nagasaki K, et al. Prognostic significance of the maspin tumor suppressor gene in pulmonary adenocarcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2004, 130(8): 475-479.
- [19] Oshiro MM, Watts GS, Wozniak RJ, et al. Mutant p53 and aberrant cytosine methylation cooperate to silence gene expression[J]. *Oncogene*, 2003, 22(23): 3624-3634.
- [20] Liu Z, Shi HY, Nawaz Z, et al. Tamoxifen induces the expression of maspin through estrogen receptor- α [J]. *Cancer Lett*, 2004, 209(1): 55-65.
- [21] Bieche I, Girault I, Sabourin JC, et al. Prognostic value of maspin mRNA expression in ER α -positive postmenopausal breast carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(6): 863-870.
- [22] Cher ML, Biliran HR Jr, Bhagat S, et al. Maspin expression inhibits osteolysis, tumor growth, and angiogenesis in a model of prostate cancer bone metastasis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(13): 7847-7852.

收稿日期: 2005-07-07 修回日期: 2005-09-06

本文编辑: 程春开