

Ether à go-go钾通道与恶性肿瘤

丁祥武, 罗和生

■背景资料

细胞膜离子通道是跨膜蛋白, 作用广泛, 包括参与电信号、肌肉收缩、激素分泌、免疫调节、细胞周期和代谢等过程。也与许多病理过程有关, 可以是原发病因(离子通道病), 也可以在疾病的发生过程中起调节作用。

丁祥武, 襄樊市中心医院消化科 湖北省襄樊市 441021
罗和生, 武汉大学人民医院消化科 湖北省武汉市 430060
罗和生, 教授, 博士生导师, 主要从事消化系统疾病基础与临床研究。

湖北省卫生厅科研基金指导性资助项目, No. JX3C44

通讯作者: 丁祥武, 441021, 湖北省襄樊市, 襄樊市中心医院消化科. xwding@hotmail.com

电话: 0710-3524360

收稿日期: 2007-07-20 修回日期: 2007-09-02

Ether à go-go potassium channel and malignant tumors

Xiang-Wu Ding, He-Sheng Luo

Xiang-Wu Ding, Department of Gastroenterology, Xiangfan Central Hospital, Xiangfan 441021, Hubei Province, China
He-Sheng Luo, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of the Department of Health of Hubei Province, No. JX3C44

Correspondence to: Xiang-Wu Ding, Department of Gastroenterology, Xiangfan Central Hospital, Xiangfan 441021, China. xwding@hotmail.com

Received: 2007-07-20 Revised: 2007-09-02

Abstract

Recently, increasing evidence from cell biology and pharmacology demonstrates that cancer cells exhibit ion channel expression patterns, ion conductances and electric properties that are very different from those of resting cells. These peculiar properties are functionally involved in cancer pathogenesis. In particular, because of its oncogenic properties, distribution, modulation and pharmacology, human ether à go-go potassium channel (Eag1, K_v10.1, KCNH1) is considered a critical ion channel-encoding gene involved in the establishment and maintenance of neoplastic growth. This review summarizes most of the findings regarding Eag1 channels and malignant tumors, focusing on cellular mechanisms, mRNA and protein expression in tissues, oncogenic properties, modulation and pharmacology.

Key Words: Ether à go-go potassium channels; Malignant tumor; Cell cycle; Targeted therapy

Ding XW, Luo HS. Ether à go-go potassium channel and

malignant tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(26): 2772-2779

摘要

离子通道与恶性肿瘤的研究相关性日益受到重视, 其中以钾通道的研究最为深入。Ether à go-go钾通道(Eag1)由于在体内局限性分布、具有癌基因的特性以及在多种临床肿瘤组织中高频率表达的特点, 已经成为前景乐观的恶性肿瘤诊治的靶点。本文综述Eag1钾通道与细胞周期和增殖的关系、致癌性及其致癌机制、在恶性肿瘤中的表达及其意义、分子成像技术检测活体内Eag1以及Eag1作为治疗靶点的实验研究进展。

关键词: Eag1钾通道; 恶性肿瘤; 细胞周期; 靶向治疗

丁祥武, 罗和生. Ether à go-go钾通道与恶性肿瘤. 世界华人消化杂志 2007;15(26):2772-2779

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2772.asp>

0 引言

10 a前Wonderlin的一篇优秀综述总结了钾通道在细胞增殖和细胞周期G1期前进中的作用^[1], 激发了离子通道与肿瘤关系研究的极大兴趣。近年发表了约20篇精辟的综述, 总结了该研究领域的最新进展^[2-19]。Debes *et al*的一项前瞻性研究也证实了长期服用钙通道阻断剂能降低发生前列腺癌的风险^[20]。这些成果已经引起了广泛兴趣, 对该领域的基础和临床前研究正在逐步深入。

离子通道与肿瘤的相关性研究中, 以钾通道的研究最为深入。其中ether à go-go钾通道(Eag1, K_v10.1, KCNH1)由于在体内局限性分布、具有癌基因的特性以及在多种临床肿瘤组织中高频表达的特点, 已经成为前景乐观的恶性肿瘤诊治的靶点。Camacho总结了2004年及此前Eag1和HERG钾通道与癌相关性的研究进展, 如与细胞周期的关系, 在肿瘤中的表达、致癌性及机制和药物干预的影响等^[7]。本文将略述该综述的部分内容, 并着重介绍近3 a Eag1钾通道与恶性肿瘤的最新进展。

表 1 Ether-à-go-go钾通道(Eag1)简介

IUPHAR命名法	K _v 10.1
人类基因命名法	KCNH1
其他名称	ether-à-go-go, EAG1a, EAG1b, KCNH1a, KCNH1b ^[22-23,25,28,61]
特点	电压门控钾通道, 延迟整流
分子信息	人类: 989aa, NM_172362, chr.:1q32-41, KCNH1, Gene ID: 3756 ^[61] 小鼠: 989aa, NM_010600, chr. 1 大鼠: 962aa, NM_031742, chr. 13q27
相关亚单位	Hyperkinetic (HK) ^[62] , CaM ^[45-46] , Slob ^[63] , epsin ^[47] , KCR1 (K channel regulator) ^[64]
功能分析	电压门控
电流	延迟整流
电导	未确定
离子选择	K ⁺ 和Ca ²⁺ ^[24] , 对Cs ⁺ 不确定
活化特点	细胞外Mg ²⁺ , Ca ²⁺ 和其他二价阳离子可以剂量和电压依赖方式减慢其活化 ^[27,65] , 细胞外低pH也减慢其活化; 其作用也可不依赖离子流动, 在Eag1的电位感受器出现构象改变时, 难以用电流方式检测, 这种转变可能是Eag1在有或无细胞外Mg ²⁺ 时出现激活的原因 ^[39] .
失活特点	未确定
活化调节	超极化减慢活化的动力学, 去极化加速活化的动力学 ^[25]
阻断剂	奎尼定(1.4 μM) ^[26] ; Ca ²⁺ /CaM(480 nM) ^[45, 65]
正常分布	脑(扁桃腺、尾核、大脑皮质、小脑、壳核、海马、额叶、枕叶、颞叶、丘脑下核; 在黑质、丘脑和延髓髓质中无表达)、成肌细胞、骨骼肌、黑色素瘤细胞、大鼠螺旋韧带、间充质干细胞 ^[33,50,66-69] , 在外周局限分布 ^[28-30,70]
生理作用	Eag1编码非失活延迟整流钾通道K _{Na} , 在人成肌细胞分化启动前活化 ^[28] , r-Eag1可能参与调节神经元谷氨酸突触的突触后信号 ^[33]
病理学	调节肿瘤细胞的周期进展和/或细胞增殖 ^[29,37] ; 与多数临床肿瘤相关 ^[30,51-55]
药理意义	可被用作靶向治疗 ^[29,41,51,58-60,71-72]
其他	该通道有GFG(不是常见的GYG)钾通道标记序列、PAS区域(位于胞浆N-末端远侧)、cNBD区域(位于C-末端近侧)、C-末端装配区域、CaM结合区域和C-末端bNLS区域各一个, 通道装配需要C-末端区域 ^[73] 和正确完整的糖基化过程 ^[31] ; K _v 10.1和K _v 10.2的C末端TCC区决定多聚体形成的特异性, K _v 10.1/K _v 10.2可组成异源性多聚体, K _v 10.x/K _v 11.1不能组合 ^[74] ; 该C-末端TCC区域在多数其他通道中可检测, TCC突变与遗传性通道病有关联; 随细胞周期进展, 电导出现相应的变化 ^[36] ; 丙咪嗪和阿司咪唑以及多菲莱德(dofetilide)hEag1对阻断的机制不同, 他们有各自相应的结合位点 ^[72]

aa, amino acids氨基酸; chr, chromosome染色体; CaM, calmodulin钙调蛋白; TCC, tetramerizing coiled-coiled缠绕的四聚体。

1 Eag1钾通道简介

2005年国际药理学联合会对Eag1钾通道作了简要的介绍(表1, 稍修改和补充)^[21]。

Eag1是在对乙醚麻醉时出现腿震颤的黑腹果蝇作突变检测时发现的一个独立基因位点, 表现为缓慢节律性的腿震颤行为, 随后被命名为ether à go-go^[22-23]。进一步研究表明Eag1基因编码与细胞兴奋有关的蛋白电压门控钾通道, 对K⁺和Ca²⁺有通透性^[24]。Eag1钾通道具有特定的电压依赖性和药理学特点, 该电流激活缓慢, 明显依赖前脉冲电位激活, 不表现失活^[25]; Cole-Moore转换接近10 ms级, 比非Eag1家族慢; Eag1的Cole-Moore转换比Eag2陡峭^[26]; 生理范围内提高细胞外镁离子浓度可增强Eag1通道的Cole-

■相关报道

近10 a来的研究发现, 钾、钠、氯、钙等离子通道与细胞增殖和/或癌的密切相关是维持癌细胞内环境稳定的重要因素, 其中某些特定的离子通道可调控肿瘤细胞的膜电压和Ca²⁺信号, 调节胞质内离子浓度、pH和细胞体积, 与一些信号转导途径之间有复杂的相互作用, 参与肿瘤细胞的增殖和/或凋亡。其中以钾离子通道与肿瘤的相关性研究最深入。

Moore转换^[27]。根据这些特点(Eag1电生理指纹)可以测定Eag1电流。

Eag1在脑中表达丰富, 但在外周正常组织的表达非常局限。研究发现即将融合前的成肌细胞和胎盘可检测到Eag1表达^[28-29]。Hemmerlein *et al*^[30]联合实时定量逆转录PCR和免疫组化检测外周正常组织中Eag1的表达情况, 发现两种方法的检测结果相符。在胃肠道, 仅胃腺主细胞和胰腺腺泡呈阳性表达; 男性生殖系统, 仅精原细胞阳性表达; 女性生殖系统, 子宫颈内膜和子宫内膜上皮细胞呈中度阳性表达, 尤其在有分泌活性的内膜腺体; 正常乳腺组织的导管小叶单位有不同程度的染色, 而导管上皮无染色(但这些正常的乳腺组织来源于乳腺肿瘤或纤维

■创新盘点

目前,有些学者倾向于将恶性肿瘤划归到“离子通道病”的范畴。离子通道将成为恶性肿瘤非常有价值的诊治靶点。

囊性增生者术后病灶的临近正常标本,而不是正常乳腺的活检标本);骨髓、脾、淋巴结、胸腺、扁桃体均阴性表达;反应性淋巴结淋巴滤泡的生发中心可检测到阳性表达;肥大细胞和组织巨噬细胞中常呈强阳性表达(可作为染色的内参照);在内分泌系统,垂体前叶和肾上腺的皮质和髓质呈弱阳性表达^[30]。这些阳性表达的细胞都是各系细胞的末期分化细胞,基本上失去了增殖的能力。

Eag1的装配需要正确完整的糖基化过程,以正确的运送到质膜,并且这种糖基化过程对已插入质膜的Eag1钾通道发挥正常的功能也非常重要^[31]。与其他多数钾通道类似,Eag1亚单位装配成四聚体时形成功能性通道;每个亚单位有6个跨膜区域,含电位感受器(富含带正电的氨基酸序列),其细胞内C-末端有一个PAS(Per-Arnt-Sim)区域,N-末端有一个环状核苷酸结合区域。PAS区域被认为是氧感受器,Eag1通道可通过缺氧或者缺氧相关的蛋白调控^[32]。

Eag1在外周正常细胞中的功能可能与人成肌细胞分化相关^[28]。尽管Eag1在脑大量表达,但关于他在神经系统中的功能的文献很少。Jeng *et al*^[33]发现Eag1和Eag2参与调节树状突细胞和体细胞的兴奋性过程,而Eag1可能还参与调节神经元谷氨酸突触的突触后信号。

2 Eag1钾通道的活性及其与细胞周期和增殖的关系

最初证实大鼠Eag1(r-Eag1)的激活依赖于钳制电位,超极化可减慢其激活动力学,而去极化加快其激活动力学^[25]。果蝇Eag1钾通道对K⁺和Ca²⁺有通透性,并依赖于膜电压和环腺苷酸调控。这种介导钾外流和钙内流的电流对于调节中枢和外周神经系统的突触传递非常重要^[24]。另外,大鼠Eag1的活化强烈依赖于细胞膜静息电位和细胞外Mg²⁺浓度,从而可精确调节神经细胞钾通道功能;降低细胞外pH,也可减慢其激活^[27]。

细胞周期是各类细胞进行有丝分裂的关键过程。Arcangeli *et al*^[34]首先在成神经细胞瘤细胞系发现细胞周期依赖性的内向整流钾通道,并证实为Eag1通道。随后,Bruggemann *et al*^[35]发现有丝分裂促进因子(mitosis-promoting factor, MPF)也抑制Eag1通道的活性,进一步证实Eag1通道具有细胞周期敏感性。他们继续深入研究发现了细胞周期M期Eag1电流的3个特点:电流密度减少、对细胞内钠离子阻断作用的敏感性增加和

对钾离子的选择性增加^[36]。而Camacho *et al*^[37]发现Eag1钾通道与细胞骨架成分有复杂的相互作用,细胞周期G2/M转换时,细胞骨架的重排具有调节Eag1钾通道电流的作用。

Meyer *et al*^[38]证实人成神经细胞瘤细胞以细胞周期依赖的方式表达Eag1钾通道,并依赖于细胞外Mg²⁺浓度,细胞内Ca²⁺对其有阻断作用。Bannister *et al*^[39]研究表明,Eag1的电位感受器出现构象改变时,难以用电流方式检测,这种转变可能是Eag1在有或无细胞外Mg²⁺时出现激活的原因。Hegle *et al*^[40]发现Eag1钾通道也可依赖电位感受器的构象变化调节细胞内信号转导(不依赖电流的变化)而引起细胞增殖,证实Eag1钾通道除通过电流变化方式引起细胞增殖外,其增殖作用还可能与非电流变化的MAP激酶信号途径有关。

3 Eag1的致癌性及其致癌机制

Pardo *et al*^[29]在1999年发表的一项研究成果,是Eag1与癌相关性研究的里程碑。他们将Eag1转染乳腺癌的几种细胞株,证实其过表达促进细胞增殖,抑制其表达则减少增殖。Eag1转染的细胞可以在无血清的培养基中生长,在琼脂培养基的生长缺乏接触抑制,注入裸鼠能促进肿瘤生长,从而证实他是致癌因子。Ouidid-Ahidouch *et al*^[41]的研究也表明Eag1钾通道对乳腺癌细胞的增殖和细胞周期进展非常重要。

新近Ousingsawat *et al*^[42]用化学致癌剂建立小鼠结肠癌变模型,发现电压门控通道(包括K_v1.3、K_v1.5、K_v3.1和Eag1等)mRNA和蛋白在癌变过程中的表达增多,其中以Eag1的增多最为明显。这项动物实验进一步验证了Eag1在癌变过程中的作用。鉴于Eag1钾通道具有原癌基因的特点,其致癌机制的研究也在逐步深入。

缺氧在肿瘤进展中起重要作用,Eag1通道可通过缺氧来调节癌细胞的适应性。Murata *et al*^[43]发现人神经母细胞瘤表达肿瘤抑制基因VHL(von Hippel-Lindau)时Eag1介导的电流完全关闭,抑制VHL表达时可激活Eag1通道。而缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)在VHL蛋白缺失的肿瘤形成过程起关键作用,VHL蛋白缺失时,HIF可稳定的诱导其靶基因表达,调节血管形成、细胞增殖和成活^[44]。

Schönherr *et al*^[45]在爪蟾卵细胞克隆人Eag1基因,发现细胞内Ca²⁺可抑制Eag1电流,这是通过Ca²⁺依赖的钙调蛋白CaM与Eag1的C-末端结

合来实现的. Ziechner *et al*^[46]的研究也证实Ca²⁺/CaM可与Eag1钾通道的胞质内N-末端和C-末端结合, 从而抑制其活性.

Piros *et al*^[47]认为epsin蛋白可与Eag1通道结合并调节其电压门控特性. Epsins是质膜细胞内吞作用过程执行内化步骤的功能蛋白, epsin与Eag1结合, 提示细胞功能与Eag1通道有密切关系, 值得深入研究.

Borowiec *et al*^[48]也证实胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF-1)可通过Akt依赖信号途径激活乳腺癌细胞Eag1钾通道. 他们发现: (1)IGF-1可在短时间内增加MCF-7细胞钾电流的密度并激发细胞超极化; (2)IGF-1以剂量依赖的方式增加Eag1 mRNA的表达, 其增加的水平与促进细胞增殖的作用同步; (3)IGF-1诱导的MCF-7细胞增殖作用能被Eag1抑制剂, 如阿司咪唑或奎尼定, 以及特异性很高的Eag1-siRNA抑制; (4)IGF-1短时间的作用能迅速刺激MCF-7细胞Akt磷酸化; (5)Wortmannin能阻断IGF-1对钾电流的作用, 而且Wortmannin抑制Akt磷酸化或特异性抑制Akt激酶的活性, 能降低Eag1 mRNA水平. 这项研究证实IGF-1可通过Akt依赖途径上调Eag1通道的表达和活性, 促进细胞增殖.

Eag1电流受到细胞周期和细胞骨架相互作用的调节^[37]. 基于细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和细胞骨架和癌进展中的作用, Toral *et al*^[49]对野生型和外源性表达Eag1钾通道的CHO细胞进行研究, 发现ECM成分是Eag1阳性表达细胞的重要调节因素. 由此推测, Eag1可能与EMC相互作用, 促进癌细胞的浸润和转移.

4 Eag1在恶性肿瘤中的表达及其意义

Pardo *et al*^[29]率先用RT-PCR检测发现Eag1在实体癌细胞系, 如宫颈癌HeLa细胞、神经母细胞瘤SHSY-5Y细胞、乳腺癌MCF-7和EFM-19细胞中呈阳性表达, 但是乳腺癌COLO-824细胞和乳腺导管癌BT-747细胞的Eag1表达非常微弱. Meyer *et al*^[38,50]发现黑色素瘤细胞IGR1和IPC298细胞以及神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞中Eag1呈阳性表达. Mello *et al*^[51]证实横纹肌肉瘤TE-671和A-204细胞、纤维肉瘤HT-1080和Hs 633t细胞呈阳性表达. 我们也发现结肠癌LoVo和HT-29细胞^[52], 以及胃癌SGC-7901和BGC-823细胞Eag1呈阳性表达^[53].

关于Eag1在临床癌症中的表达, Farias *et al*^[54]率先对宫颈癌进行了研究. 他们检测

取自人子宫颈的新鲜标本: 5例癌活检标本的原代培养细胞、1例癌新鲜组织、12例对照正常组织活检标本(巴氏涂片阴性). 通过逆转录PCR和Southern印迹实验, 发现6例癌标本全部阳性表达, 正常对照活检标本33%呈阳性表达. 免疫组化显示原代培养呈阳性者, 其宫颈活检标本也呈阳性表达. 在原代培养细胞中可检测出Eag1介导的电流, 该电流受Mg²⁺调节, 呈现明显的Cole-Moore转换. 他们还观察到1例巴氏涂片阴性的Eag1阳性表达患者, 术前无宫颈癌的证据, 术后活检证实为癌. 另外, Eag1呈阳性表达者中, 1例证实人乳头状瘤病毒感染, 其他均为不典型性腺瘤增生(癌前状态). 因此Eag1阳性表达可能是肿瘤发展的早期表现, 并且可作为其诊断标志. Patt *et al*^[55]也检测到Eag1 mRNA在神经胶质瘤中呈阳性表达, 并与其恶性程度有关.

随后Mello *et al*^[51]用免疫组化检测210例软组织肉瘤Eag1的表达. 所有肿瘤的阳性率为71%, 其中各种组织类型的阳性率分别为: 脂肪肉瘤56%(18/32)、纤维肉瘤67%(8/12)、平滑肌肉瘤73%(19/26)、滑膜肉瘤75%(9/12)、恶性纤维组织细胞瘤81%(18/22)、横纹肌肉瘤82%(14/17). Eag1蛋白表达水平与组织类型有关, 但与性别、年龄、肿瘤分级或大小无相关性. 他们同时开始进行前瞻性研究, 分析Eag1钾通道对预后判断的价值. 在短暂的2 a随访期间, 共有19例患者死亡, 其中17例Eag1呈强阳性表达. 在32例脂肪肉瘤病例(18例阳性表达, 其中13例强阳性、5例弱阳性)中, 6例(19%)在2 a内死亡, 其中的5例Eag1阳性表达; 死亡率占强阳性表达患者的38%(5/13), 而93%(13/14)阴性表达者在2 a随访期内存活. 他们还发现Eag1阳性表达者的复发率(13%)明显高于阴性表达者(6%). 因此, Eag1钾通道的阳性表达可能是有价值的预后判断因素. 鉴于随访时间短, 随访的样本数少, 有必要继续进行长时间的随访研究.

Hemmerlein *et al*^[30]用免疫组化检测了多种正常组织和临床肿瘤Eag1钾通道的表达(表2). 所用的一抗分别为Eag1全抗体(Whole antibody)和重组的单链抗体(Recombinant PhoA scFv). 应用重组的单链抗体是为了避免非特异性染色. 两种抗体对正常组织染色的结果相似; 对于肿瘤标本, 重组单链抗体染色的阳性率稍低. 对相应标本作实时定量逆转录PCR检测的结果类似.

我们也检测了Eag1在大肠癌的表达: Eag1

■应用要点

Pardo和Stuhmer研究小组所在的研究所(Max-Planck Institute of Experimental Medicine, Göttingen, Germany)率先开展Eag1钾通道与癌相关的研究, 证实了Eag1钾通道是癌基因, 并且是恶性肿瘤有效的诊治靶点. 他们开创和深入了Eag1钾通道与恶性肿瘤相关性的研究, 为Eag1将来的临床应用提出了重要的理论基础和证据.

■同行评价

本文详细综述了Eag1钾通道与恶性肿瘤的关系和意义,立题新颖,内容丰富,层次清晰,对临床和基础研究都有较强的指导意义和参考价值。

蛋白阳性表达率为76.3%(58/76), mRNA为77%(10/13);对应正常组织均阴性表达。免疫组化检测9例腺瘤性息肉,1例染色阳性。Eag1蛋白表达半定量表达水平与性别、年龄、发病部位、分化程度等无相关性,而与肿瘤大小、淋巴结转移、远处转移和Dukes'分期有关。因此Eag1不仅与肿瘤的浸润和转移关系密切,而且可能与肿瘤发生的早期事件有关^[52]。我们对胃癌的检测结果也与此相似^[53]。同样, Ousingsawat *et al*^[42]近期也证实了Eag1在结肠癌中的表达。

5 分子成像技术检测活体内Eag1

近期近红外线荧光成像技术(near-infrared fluorescent, NIF)的进展,联合应用特异性抗体,已能对小动物体内进行分子成像^[56-57]。该方法所用的抗体需用红外线发射性染料如AlexaFluor 680或Cy5.5来标记,对肿瘤动物模型的研究更为便利,既可反复观察肿瘤在体内的生长和转移,又可观察靶向治疗对肿瘤的效果,而不会伤害活体的模型动物。

Pardo *et al*^[12,17]应用该方法作了相关研究。他们用AlexaFluor 680标记特异性单克隆Eag1抗体,将该标记的抗体100 μg注射入接种乳腺癌MBA-MB-413S细胞(Eag1阳性表达)、并在形成肿瘤的裸鼠肿瘤模型体内,24 h后检查发现原发性肿瘤和哨兵淋巴结清晰的成像,证实标记的抗体能与肿瘤细胞表面的Eag1表位结合。

6 Eag1作为治疗靶点

Ouadid-Ahidouch *et al*^[41]对MCF-7的研究证实Eag1钾通道在调控细胞增殖和/或细胞周期进程中起重要作用。他们发现经典的钾通道阻断剂四乙胺可完全抑制MCF-7细胞去极化期的外向整流电流,同时抑制细胞增殖。与细胞周期G1期进展的细胞比较, G0/G1期停滞的细胞呈去极化表现,其IK电流密度小;这种IK电流对Mg²⁺、阿司咪唑和四乙胺很敏感;Eag1 mRNA在细胞周期过程中也有相应的变化。

Gavrilova-Ruch *et al*^[58]对人恶性黑色素瘤的模型细胞IGR1中离子通道对细胞增殖的影响进行了研究,发现丙咪唑可减少细胞DNA的代谢和合成, Eag1钾通道对丙咪唑最敏感; Eag1对黑色素瘤细胞的增殖最重要,而钾钙通道和氯通道对其增殖几乎不发挥作用。我们应用丙咪唑干预胃癌细胞SGC-7901和BGC-823,发现这两种细胞的增殖受到抑制^[53]。

表 2 免疫组化检测Eag1在恶性肿瘤中的表达

肿瘤类型	全抗体		重组的单链抗体	
	<i>n</i>	阳性 <i>n</i>	<i>n</i>	阳性 <i>n</i>
食管癌	8	8	12	8
胃癌	10	9	14	6
结肠癌	8	6	40	31
肝癌	10	10	8	5
胆囊癌	5	4	1	1
胰腺癌	8	6	1	1
肾细胞癌	9	9	9	6
移行细胞癌	9	8	6	4
前列腺癌	56	55	1	1
宫颈癌	9	7	—	—
子宫内膜癌	10	10	—	—
卵巢囊腺癌	10	10	—	—
乳腺癌	230	196	116	95
支气管癌	10	9	73	41
甲状腺乳头状癌	9	9	3	2
基底细胞癌、脊细胞癌	10	1	—	—
恶性黑色素瘤	59	22	1	1
总计	470	378 (80%)	286	202 (71%)

这些药物的特异性较差,有必要开发特异性抑制剂来研究Eag1钾通道对细胞增殖的作用。Pardo *et al*^[29]用反义寡脱氧核糖核苷酸(ODN)技术抑制Eag1钾通道,发现SH-SY5Y细胞的Eag1电流密度明显下降,细胞增殖受到显著的抑制。他们应用基因沉默技术对多个肿瘤细胞进行研究,发现Eag1 siRNA能在mRNA、蛋白和电流水平抑制Eag1钾通道的表达,并且多个细胞系在Eag1 siRNA干预后,细胞增殖能力被显著抑制^[59]。最近, Gomez-Varela *et al*^[60]用特异性hEag1 mAb阻断肿瘤细胞的Eag1钾通道,明显抑制了体外和体内肿瘤细胞的生长。该研究为开发对离子通道具有拮抗作用的功能性mAb提供了初步的经验。因此,不管是从基因水平,还是从蛋白水平, Eag1都有可能成为恶性肿瘤诊治有价值的靶点。

总之, Eag1是膜蛋白,可在细胞膜表面接触,参与细胞的信号转导,在正常组织和恶性肿瘤中有独特的表达特点,因此Eag1也定会成为癌症诊治的有效靶点。

与其他已确定的治疗方法比较, Eag1的靶向治疗有其独到的优势。首先,由于Eag1在绝大多数肿瘤中有很高的阳性表达率, Eag1的靶向治疗可应用于绝大多数肿瘤患者;其次, Eag1在正常组织的表达非常局限: Eag1主要在脑中表达,血脑屏障可发挥其保护作用; Eag1在外周局限性表

达于分化终末期细胞, Eag1靶向治疗的副作用很小. 应该继续深入Eag1与肿瘤的相关性研究, 为早日利用他作为临床癌症的诊疗工具提供可靠的临床前依据.

7 参考文献

- Wonderlin WF, Strobl JS. Potassium channels, proliferation and G1 progression. *J Membr Biol* 1996; 154: 91-107
- Pardo LA, Contreras-Jurado C, Zientkowska M, Alves F, Stuhmer W. Role of voltage-gated potassium channels in cancer. *J Membr Biol* 2005; 205: 115-124
- Schonherr R. Clinical relevance of ion channels for diagnosis and therapy of cancer. *J Membr Biol* 2005; 205: 175-184
- Lang F, Foller M, Lang KS, Lang PA, Ritter M, Gulbins E, Vereninov A, Huber SM. Ion channels in cell proliferation and apoptotic cell death. *J Membr Biol* 2005; 205: 147-157
- Kunzelmann K. Ion channels and cancer. *J Membr Biol* 2005; 205: 159-173
- Schreiber R. Ca²⁺ signaling, intracellular pH and cell volume in cell proliferation. *J Membr Biol* 2005; 205: 129-137
- Camacho J. Ether a go-go potassium channels and cancer. *Cancer Lett* 2006; 233: 1-9
- Witchel HJ. The hERG potassium channel as a therapeutic target. *Expert Opin Ther Targets* 2007; 11: 321-336
- Bodding M. TRP proteins and cancer. *Cell Signal* 2007; 19: 617-624
- Felipe A, Vicente R, Villalonga N, Roura-Ferrer M, Martinez-Marmol R, Sole L, Ferreres JC, Condom E. Potassium channels: new targets in cancer therapy. *Cancer Detect Prev* 2006; 30: 375-385
- Fiske JL, Fomin VP, Brown ML, Duncan RL, Sikes RA. Voltage-sensitive ion channels and cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 493-500
- Gray LS, Macdonald TL. The pharmacology and regulation of T type calcium channels: new opportunities for unique therapeutics for cancer. *Cell Calcium* 2006; 40: 115-120
- Okada Y, Shimizu T, Maeno E, Tanabe S, Wang X, Takahashi N. Volume-sensitive chloride channels involved in apoptotic volume decrease and cell death. *J Membr Biol* 2006; 209: 21-29
- Panner A, Wurster RD. T-type calcium channels and tumor proliferation. *Cell Calcium* 2006; 40: 253-259
- Roger S, Potier M, Vandier C, Besson P, Le Guennec JY. Voltage-gated sodium channels: new targets in cancer therapy? *Curr Pharm Des* 2006; 12: 3681-3695
- Shoshan-Barmatz V, Israelson A, Brdiczka D, Sheu SS. The voltage-dependent anion channel (VDAC): function in intracellular signalling, cell life and cell death. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 2249-2270
- Stuhmer W, Alves F, Hartung F, Zientkowska M, Pardo LA. Potassium channels as tumour markers. *FEBS Lett* 2006; 580: 2850-2852
- Zhang L, Barritt GJ. TRPM8 in prostate cancer cells: a potential diagnostic and prognostic marker with a secretory function? *Endocr Relat Cancer* 2006; 13: 27-38
- Arcangeli A. Expression and role of hERG channels in cancer cells. *Novartis Found Symp* 2005; 266: 225-232; discussion 232-234
- Debes JD, Roberts RO, Jacobson DJ, Girman CJ, Lieber MM, Tindall DJ, Jacobsen SJ. Inverse association between prostate cancer and the use of calcium channel blockers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 255-259
- Gutman GA, Chandy KG, Grissmer S, Lazdunski M, McKinnon D, Pardo LA, Robertson GA, Rudy B, Sanguinetti MC, Stuhmer W, Wang X. International Union of Pharmacology. LIII. Nomenclature and molecular relationships of voltage-gated potassium channels. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 473-508
- Kaplan WD, Trout WE 3rd. The behavior of four neurological mutants of *Drosophila*. *Genetics* 1969; 61: 399-409
- Warmke J, Drysdale R, Ganetzky B. A distinct potassium channel polypeptide encoded by the *Drosophila* eag locus. *Science* 1991; 252: 1560-1562
- Bruggemann A, Pardo LA, Stuhmer W, Pongs O. Ether-a-go-go encodes a voltage-gated channel permeable to K⁺ and Ca²⁺ and modulated by cAMP. *Nature* 1993; 365: 445-448
- Ludwig J, Terlau H, Wunder F, Bruggemann A, Pardo LA, Marquardt A, Stuhmer W, Pongs O. Functional expression of a rat homologue of the voltage gated ether a go-go potassium channel reveals differences in selectivity and activation kinetics between the *Drosophila* channel and its mammalian counterpart. *EMBO J* 1994; 13: 4451-4458
- Schonherr R, Gessner G, Lober K, Heinemann SH. Functional distinction of human EAG1 and EAG2 potassium channels. *FEBS Lett* 2002; 514: 204-208
- Terlau H, Ludwig J, Steffan R, Pongs O, Stuhmer W, Heinemann SH. Extracellular Mg²⁺ regulates activation of rat eag potassium channel. *Pflugers Arch* 1996; 432: 301-312
- Occhiodoro T, Bernheim L, Liu JH, Bijlenga P, Sinnreich M, Bader CR, Fischer-Lougheed J. Cloning of a human ether-a-go-go potassium channel expressed in myoblasts at the onset of fusion. *FEBS Lett* 1998; 434: 177-182
- Pardo LA, del Camino D, Sanchez A, Alves F, Bruggemann A, Beckh S, Stuhmer W. Oncogenic potential of EAG K(+) channels. *EMBO J* 1999; 18: 5540-5547
- Hemmerlein B, Weseloh RM, Mello de Queiroz F, Knotgen H, Sanchez A, Rubio ME, Martin S, Schliephacke T, Jenke M, Heinz-Joachim-Radzun, Stuhmer W, Pardo LA. Overexpression of Eag1 potassium channels in clinical tumours. *Mol Cancer* 2006; 5: 41
- Napp J, Monje F, Stuhmer W, Pardo LA. Glycosylation of Eag1 (Kv10.1) potassium channels: intracellular trafficking and functional consequences. *J Biol Chem* 2005; 280: 29506-29512
- Pellequer JL, Brudler R, Getzoff ED. Biological sensors: More than one way to sense oxygen. *Curr Biol* 1999; 9: R416-418
- Jeng CJ, Chang CC, Tang CY. Differential localization of rat Eag1 and Eag2 K⁺ channels in hippocampal neurons. *Neuroreport* 2005; 16: 229-233
- Arcangeli A, Bianchi L, Becchetti A, Faravelli L, Coronello M, Mini E, Olivotto M, Wanke E. A novel inward-rectifying K⁺ current with a cell-cycle dependence governs the resting potential of mammalian neuroblastoma cells. *J Physiol* 1995; 489 (

- Pt 2): 455-471
- 35 Bruggemann A, Stuhmer W, Pardo LA. Mitosis-promoting factor-mediated suppression of a cloned delayed rectifier potassium channel expressed in *Xenopus oocytes*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 537-542
 - 36 Pardo LA, Bruggemann A, Camacho J, Stuhmer W. Cell cycle-related changes in the conducting properties of r-eag K⁺ channels. *J Cell Biol* 1998; 143: 767-775
 - 37 Camacho J, Sanchez A, Stuhmer W, Pardo LA. Cytoskeletal interactions determine the electrophysiological properties of human EAG potassium channels. *Pflugers Arch* 2000; 441: 167-174
 - 38 Meyer R, Heinemann SH. Characterization of an eag-like potassium channel in human neuroblastoma cells. *J Physiol* 1998; 508 (Pt 1): 49-56
 - 39 Bannister JP, Chanda B, Bezanilla F, Papazian DM. Optical detection of rate-determining ion-modulated conformational changes of the ether-a-go-go K⁺ channel voltage sensor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 18718-18723
 - 40 Hegle AP, Marble DD, Wilson GF. A voltage-driven switch for ion-independent signaling by ether-a-go-go K⁺ channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2886-2891
 - 41 Ouadid-Ahidouch H, Le Bourhis X, Roudbaraki M, Toillon RA, Delcourt P, Prevarskaia N. Changes in the K⁺ current-density of MCF-7 cells during progression through the cell cycle: possible involvement of a h-ether.a-gogo K⁺ channel. *Receptors Channels* 2001; 7: 345-356
 - 42 Ousingsawat J, Spitzner M, Puntheeranurak S, Terracciano L, Tornillo L, Bubendorf L, Kunzelmann K, Schreiber R. Expression of voltage-gated potassium channels in human and mouse colonic carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 824-831
 - 43 Murata H, Tajima N, Nagashima Y, Yao M, Baba M, Goto M, Kawamoto S, Yamamoto I, Okuda K, Kanno H. Von Hippel-Lindau tumor suppressor protein transforms human neuroblastoma cells into functional neuron-like cells. *Cancer Res* 2002; 62: 7004-7011
 - 44 Kim WY, Kaelin WG. Role of VHL gene mutation in human cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4991-5004
 - 45 Schonherr R, Lober K, Heinemann SH. Inhibition of human ether a go-go potassium channels by Ca(2+)/calmodulin. *EMBO J* 2000; 19: 3263-3271
 - 46 Ziechner U, Schonherr R, Born AK, Gavrilova-Ruch O, Glaser RW, Malesevic M, Kullertz G, Heinemann SH. Inhibition of human ether a go-go potassium channels by Ca²⁺/calmodulin binding to the cytosolic N- and C-termini. *FEBS J* 2006; 273: 1074-1086
 - 47 Pirots ET, Shen L, Huang XY. Purification of an EH domain-binding protein from rat brain that modulates the gating of the rat ether-a-go-go channel. *J Biol Chem* 1999; 274: 33677-33683
 - 48 Borowiec AS, Hague F, Harir N, Guenin S, Guerineau F, Gouilleux F, Roudbaraki M, Lassoued K, Ouadid-Ahidouch H. IGF-1 activates hEAG K(+) channels through an Akt-dependent signaling pathway in breast cancer cells: Role in cell proliferation. *J Cell Physiol* 2007; 212: 690-701
 - 49 Toral C, Mendoza-Garrido ME, Azorin E, Hernandez-Gallegos E, Gomora JC, Delgadillo DM, Solano-Agama C, Camacho J. Effect of extracellular matrix on adhesion, viability, actin cytoskeleton and K⁺ currents of cells expressing human ether a go-go channels. *Life Sci* 2007; 81: 255-265
 - 50 Meyer R, Schonherr R, Gavrilova-Ruch O, Wohlrab W, Heinemann SH. Identification of ether a go-go and calcium-activated potassium channels in human melanoma cells. *J Membr Biol* 1999; 171: 107-115
 - 51 Mello de Queiroz F, Suarez-Kurtz G, Stuhmer W, Pardo LA. Ether a go-go potassium channel expression in soft tissue sarcoma patients. *Mol Cancer* 2006; 5: 42
 - 52 Ding XW, Yan JJ, An P, Lu P, Luo HS. Aberrant expression of ether a go-go potassium channel in colorectal cancer patients and cell lines. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1257-1261
 - 53 Ding XW, Luo HS, Jin X, Yan JJ, Ai YW. Aberrant expression of Eag1 potassium channels in gastric cancer patients and cell lines. *Medical Oncology* 2007; 24: 345-350
 - 54 Farias LM, Ocana DB, Diaz L, Larrea F, Avila-Chavez E, Cadena A, Hinojosa LM, Lara G, Villanueva LA, Vargas C, Hernandez-Gallegos E, Camacho-Arroyo I, Duenas-Gonzalez A, Perez-Cardenas E, Pardo LA, Morales A, Taja-Chayeb L, Escamilla J, Sanchez-Pena C, Camacho J. Ether a go-go potassium channels as human cervical cancer markers. *Cancer Res* 2004; 64: 6996-7001
 - 55 Patt S, Preussat K, Beetz C, Kraft R, Schrey M, Kalff R, Schonherr K, Heinemann SH. Expression of ether a go-go potassium channels in human gliomas. *Neurosci Lett* 2004; 368: 249-253
 - 56 Frangioni JV. In vivo near-infrared fluorescence imaging. *Curr Opin Chem Biol* 2003; 7: 626-634
 - 57 Shah K. Current advances in molecular imaging of gene and cell therapy for cancer. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 518-523
 - 58 Gavrilova-Ruch O, Schonherr K, Gessner G, Schonherr R, Klapperstuck T, Wohlrab W, Heinemann SH. Effects of imipramine on ion channels and proliferation of IGR1 melanoma cells. *J Membr Biol* 2002; 188: 137-149
 - 59 Weber C, Mello de Queiroz F, Downie BR, Suckow A, Stuhmer W, Pardo LA. Silencing the activity and proliferative properties of the human Eag1 Potassium Channel by RNA Interference. *J Biol Chem* 2006; 281: 13030-13037
 - 60 Gomez-Varela D, Zwick-Wallasch E, Knotgen H, Sanchez A, Hettmann T, Ossipov D, Weseloh R, Contreras-Jurado C, Rothe M, Stuhmer W, Pardo LA. Monoclonal antibody blockade of the human Eag1 potassium channel function exerts antitumor activity. *Cancer Res* 2007; 67: 7343-7349
 - 61 Warmke JW, Ganetzky B. A family of potassium channel genes related to eag in *Drosophila* and mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 3438-3442
 - 62 Wilson GF, Wang Z, Chouinard SW, Griffith LC, Ganetzky B. Interaction of the K channel beta subunit, Hyperkinetic, with eag family members. *J Biol Chem* 1998; 273: 6389-6394
 - 63 Schopperle WM, Holmqvist MH, Zhou Y, Wang J, Wang Z, Griffith LC, Keselman I, Kusnitz F, Dagan D, Levitan IB. Slob, a novel protein that interacts with the Slowpoke calcium-dependent potassium channel. *Neuron* 1998; 20: 565-573
 - 64 Hoshi N, Takahashi H, Shahidullah M, Yokoyama S, Higashida H. KCRI1, a membrane protein that facilitates functional expression of non-inactivating

- K⁺ currents associates with rat EAG voltage-dependent K⁺ channels. *J Biol Chem* 1998; 273: 23080-23085
- 65 Stansfeld CE, Roper J, Ludwig J, Weseloh RM, Marsh SJ, Brown DA, Pongs O. Elevation of intracellular calcium by muscarinic receptor activation induces a block of voltage-activated rat ether-a-go-go channels in a stably transfected cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 9910-9914
- 66 Lecain E, Sauvaget E, Crisanti P, Van Den Abbeele T, Huy PT. Potassium channel ether a go-go mRNA expression in the spiral ligament of the rat. *Hear Res* 1999; 133: 133-138
- 67 Saganich MJ, Vega-Saenz de Miera E, Nadal MS, Baker H, Coetzee WA, Rudy B. Cloning of components of a novel subthreshold-activating K(+) channel with a unique pattern of expression in the cerebral cortex. *J Neurosci* 1999; 19: 10789-10802
- 68 Saganich MJ, Machado E, Rudy B. Differential expression of genes encoding subthreshold-operating voltage-gated K⁺ channels in brain. *J Neurosci* 2001; 21: 4609-4624
- 69 Mareschi K, Novara M, Rustichelli D, Ferrero I, Guido D, Carbone E, Medico E, Madon E, Vercelli A, Fagioli F. Neural differentiation of human mesenchymal stem cells: Evidence for expression of neural markers and eag K⁺ channel types. *Exp Hematol* 2006; 34: 1563-1572
- 70 Liu JH, Bijlenga P, Fischer-Lougheed J, Occhiodoro T, Kaelin A, Bader CR, Bernheim L. Role of an inward rectifier K⁺ current and of hyperpolarization in human myoblast fusion. *J Physiol* 1998; 510 (Pt 2): 467-476
- 71 Garcia-Ferreiro RE, Kerschensteiner D, Major F, Monje F, Stuhmer W, Pardo LA. Mechanism of block of hEag1 K⁺ channels by imipramine and astemizole. *J Gen Physiol* 2004; 124: 301-317
- 72 Gomez-Varela D, Contreras-Jurado C, Furini S, Garcia-Ferreiro R, Stuhmer W, Pardo LA. Different relevance of inactivation and F468 residue in the mechanisms of hEag1 channel blockage by astemizole, imipramine and dofetilide. *FEBS Lett* 2006; 580: 5059-5066
- 73 Ludwig J, Owen D, Pongs O. Carboxy-terminal domain mediates assembly of the voltage-gated rat ether-a-go-go potassium channel. *EMBO J* 1997; 16: 6337-6345
- 74 Jenke M, Sanchez A, Monje F, Stuhmer W, Weseloh RM, Pardo LA. C-terminal domains implicated in the functional surface expression of potassium channels. *EMBO J* 2003; 22: 395-403

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

欢迎订阅 2008 年《世界华人消化杂志》

本刊讯 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》,荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》,俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。

《世界华人消化杂志》综合介绍以下内容:消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化护理、消化医学影像、消化病理、消化预防医学、消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用。

《世界华人消化杂志》2008年由北京报刊发行局发行,国际标准刊号 ISSN 1009-3079,国内统一刊号 CN 14-1260/R,邮发代号82-262,出版日期每月8, 18, 28日,月价72.00, 年价864元。欢迎广大消化科医务工作者及科教人员、各大图书馆订阅。联系地址: 100023, 北京市2345信箱。联系电话: 010-85381901-1020; 传真: 010-85381893; E-mail: wjcd@wjgnet.com; <http://www.wjgnet.com>。