

骨桥蛋白：胃癌生物标记物及防治新靶点

刘美红 贺海平

【摘要】 骨桥蛋白(OPN)是一种高度带负电荷的分泌型磷酸化糖蛋白。近年研究表明, OPN在胃癌的发生、发展中起着重要的作用, 有望为胃癌早期诊断、复发及预后判断提供新的指标, 亦有望成为防治胃癌的潜在靶点。本文就OPN在胃癌中所起的作用及其在诊断治疗方面潜在的临床价值作一综述。

【关键词】 骨桥蛋白; 胃肿瘤; 肿瘤标记, 生物学; 防治

Osteopontin: gastric cancer biomarkers and new targets for prevention Liu Meihong*, He Haiping.

*Department of Medical Oncology, Tumor Hospital Affiliated to Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

Corresponding author: He Haiping, Email: 745815732@qq.com

【Abstract】 Osteopontin (OPN) is a highly negatively charged secreted phosphorylated glycoprotein. Recent studies show that OPN plays an important role in the development of gastric cancer, and is expected to provide a new target for the early diagnosis, recurrence and prognosis of gastric cancer, and is also expected to be a potential target for prevention and treatment of gastric cancer. This review was written on OPN in the role of diagnosis, treatment and potential clinical value of gastric cancer.

【Key words】 Osteopontin; Stomach neoplasms; Tumor markers, biological; Prevention

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤, 在世界范围内是癌症致死的主要原因, 在日本、韩国、中国等亚洲国家胃癌的死亡率更是位居恶性肿瘤之首^[1], 给当今社会带来重大社会经济负担。至今, 外科手术切除仍是早期胃癌的首要选择, 但由于许多患者发现时已经是中晚期, 已存在淋巴结及全身的转移, 因而此类患者治疗后复发率高, 预后较差。为此, 寻求新的有用的肿瘤标记物及防治靶点对胃癌的动态观察与治疗至关重要, 而骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在胃癌中的作用为近年研究的热点之一。

一、OPN的分子结构与功能

1979年, Senger等^[2]在恶性转化的上皮细胞株中首次发现了OPN, 时称转化相关性磷酸蛋白。1985年, Franzen等^[3]从骨组织中分离出一种磷蛋白, 经证实, 其特性与Senger等发现的磷蛋白相似, 并正式命名为OPN。

人OPN是一种高度带负电荷的分泌型磷酸化糖蛋白, 由314个氨基酸组成。人的OPN基因定位在染色体4q13, 是1个独立编码基因, 具有7个外显子和6个内含子组成, 其外显子有3个单核苷酸多态特性区域(SNPs)。OPN蛋白经过丝氨酸/苏氨酸磷酸化、糖基化及酪氨酸硫酸化等一系列的翻译后修饰可使OPN的分子量从25 kDa延伸至75 kDa^[4]。OPN具有一系列的高度保守元件, 包含RGD(精氨酸—甘氨酸—天冬氨酸)序列、 $\alpha_5\beta_1/\alpha_4\beta_1$ 结合域、凝血酶裂解位点、基质金属蛋白酶(MMP)作用位点、钙离子及肝素等结合位点^[5], 其N端片段经磷酸化后, 可与 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 等整合素受体结合; C端片段可与粘附分子CD44结合。OPN的RNA经过选择性拼接可产生3种OPN cDNA: OPN-a、OPN-b、OPN-c, 可以通过不同的表达谱及特异性功能来表现出肿瘤的特异性^[6-7]。

OPN的生理及病理功能: (1) OPN通过细胞黏附序列RGD与肿瘤细胞的整合素受体结合后引起聚集黏附激酶(FAK)磷酸化, 激活多种传导途径而参与细胞的黏附、迁移和增殖。(2) 在细胞免疫应答过程中, OPN是最重要也是最早起作用的细胞因子, 它通过对巨噬细胞的趋化, 诱导产生

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.05.033

基金项目: 广西科技厅基金资助项目(0991232)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学附属肿瘤医院肿瘤内科(刘美红), 信息中心(贺海平)

通讯作者: 贺海平, Email: 745815732@qq.com

IL-12 及提高 IFN- γ , 而参与炎症反应和免疫应答。(3) 通过诱导血管内皮细胞迁移, 上调血管内皮生长因子 (VEGF) 受体效应, 促进内皮细胞芽生, 而诱发新生血管形成。(4) 内皮细胞以 $\alpha\text{v}\beta 3$ 与固定在细胞表面的 OPN 相互作用, 活化核因子 κB (NF- κB) 途径, 而抑制细胞凋亡。(5) 通过与受体 $\alpha\text{v}\beta 3$ 整合素的相互作用, 参与细胞信号转导。

二、OPN 的表达及临床价值

OPN 可表达在人类不同的组织中, 如骨、肾、胰腺等; 而许多不同类型的细胞也能表达 OPN, 如骨细胞、上皮细胞、内皮细胞等; 也存在于正常体液里, 如血清、尿液等。有研究报道^[8-13]OPN 在胃癌患者的转录和翻译水平过程中表达显著升高, OPN 在原发性胃癌及转移灶中处于高度表达, 在处于癌前病变的慢性萎缩性胃炎患者的上皮细胞中轻度表达, 而在正常胃黏膜中则为阴性表达, 这表明 OPN 在胃癌的发生、发展中起重要作用^[14-15], 可能成为胃癌潜在的生物标记物及防治新靶点。目前, OPN 被选为临床最有潜在价值的肿瘤标记物, Wu 等^[11]对 132 例胃癌患者和 93 名正常对照者研究表明胃癌患者血清 OPN 水平较正常对照明显升高, 尤其在伴有淋巴管侵犯及淋巴结转移的患者中升高更为明显。这些研究都表明血清 OPN 有作为胃癌生物标记物的潜在价值, 且因其存在于血液中, 作为临床检测标记物在临床应用中更为便捷。在胃癌组织中, OPN 蛋白广泛的分布于肿瘤细胞及肿瘤相关巨噬细胞 (TAMS) 的胞质中, 这也是它能在肿瘤细胞和肿瘤基质间的相互作用中能发挥作用的原因。

近年的研究表明 OPN 与胃癌患者的诊断和预后价值密切相关, OPN 的过度表达明显与胃癌患者的一些临床病理特征有关, 如低凋亡指数、高增值指数、淋巴结和血管浸润及远处转移等^[9-10, 13], 因此 OPN 的过度表达可作为胃癌患者预后不良和肿瘤复发的一项独立的预后指标^[10, 13]。Dai 等^[13]通过对 306 例胃癌组织 OPN 表达状况的研究发现 OPN 阳性的胃癌患者预后较 OPN 阴性患者差, 多因素分析也显示 OPN 表达是胃癌患者无病生存和长期生存的一个独立预后指标, 特别是带瘤生存者、淋巴结转移和 TNM 分期 II、III 阶段者。孙现军等^[16]研究也显示 OPN mRNA 的表达与肿瘤侵袭深度、肿瘤直径、淋巴结转移及有无转移有关, 而与肿瘤的分化程度无关。此外, 临床上联合检测 OPN 与

传统生物标记物对胃癌患者的预后价值也在不断探索当中, Zhang 等^[9]发现联合检测 OPN 与尾型同源框转录因子 (CDX2) 可作为判断进展期胃癌患者的预后一个指标。因胃癌患者血清 OPN 水平升高与一系列临床病理特征 (如胃癌晚期、浆膜侵犯、淋巴结和血管浸润、肝脏转移等) 相关, 胃癌患者血清 OPN 水平越高其预后越差, 特别是对伴有浸润转移的患者, 所以血清 OPN 水平升高可能成为胃癌患者预后较差的一个独立危险因素, 有其潜在的临床应用价值。

三、OPN 在胃癌发生、发展中的分子机制

OPN 通过与整合素和/或 CD44 受体作用后, 影响表皮生长因子受体等的活性, 从而激活各种信号途径, 如 OPN 与 $\alpha\text{v}\beta 3$ 结合激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) -Akt 通路, 该通路活化可通过多种途径上调缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达, 从而促进肿瘤的生长和血管的生成, 抑制胃癌细胞凋亡^[17-18]。

此外, NF- κB 信号通路是最重要的细胞信号传导通路之一, 激活的 NF- κB 能上调肿瘤促进因子的表达, 通过抗凋亡效应在肿瘤的发生、发展和耐药中发挥重要作用^[19-20]。近年来研究表明, OPN 对胃癌的促进作用与 NF- κB 信号通路有密切关系, OPN 通过激活 NF- κB 信号转导通路, 使 NF- κB 从细胞质活化如细胞核内, 与转移相关分子基因的启动子或增强子上的 k 位点结合, 是这些转移相关分子的转录活性增强, 最终导致胃癌细胞的侵袭转移。

MMP 家族是负责 ECM 的降解与重塑, 在肿瘤的侵袭与转移中发挥重要作用, 孙现军等^[21]证明 OPN 与 MMP-9 在胃癌中的转移具有协同作用, 其表达上调使癌细胞快速增值和转移。近年, 也有研究表明^[20, 22-24]OPN、MMP 家族如 MMP-2、MMP-9 等与其他侵袭相关的蛋白如血管内皮生长因子 (VEGF) 与尿激酶型纤溶酶原激活剂 (uPA) 协同参与胃癌的侵袭转移。Tang 等^[25]也认为 OPN、VEGF、COX-2 可以协同促进肿瘤转移及抗凋亡。另外, 胃癌的 COX-2 抑制剂的抗肿瘤活性可能是通过阻断其核受体家族 NR4A2 和 Wnt/ β -连环而下调 OPN, 这也是 OPN 发挥作用的重要因素^[26]。

四、OPN: 胃癌防治潜在的靶点

近年来, OPN 已越来越多地应用于肿瘤机制的研究。OPN 作为防治靶点已在乳腺癌、肺癌、头颈部肿瘤、胃癌、结肠癌、肝癌等多种肿瘤中进行探

索,并且取得了一系列可喜的研究成果^[22, 27-30]。其治疗策略通常是抑制 OPN 配体及其受体,从而阻断肿瘤的下游信号转导通路,下调各种癌基因的表达,抑制肿瘤细胞的生长和侵袭。Gong 等^[20]采用 RNAi 技术将 siRNA 转染给胃癌细胞,对 OPNBCG-823 胃癌细胞产生特定和长期的沉默,从而敲除 OPN 的表达以降低 MMP2 和 uPA 的表达,从而减弱细胞外基质降解,抑制胃癌的生长、浸润及转移能力,Tang 等^[31]研究表明 OPN siRNAi 技术敲除某个与胃癌的生长、转移、血管形成相关的目标基因可抑制胃癌肿瘤生长、浸润及转移能力。此外,Wang 等^[32]研究发现将采用慢病毒特定载体转染 siRNA 技术沉默 OPN 蛋白表达的 OPN-SGC7901 胃癌细胞株植入小鼠体内,能使小鼠降低肿瘤检出、减少转移及获得更长的生存时间。这些研究都表明针对 OPN 的 RNA 干扰技术及和它相关的信号通路可能为胃癌患者提供行之有效的治疗方法。

五、小结与展望

近年的研究已经揭示了 OPN 与胃癌发生、发展相关的临床病理特征的关系,证明 OPN 可作为判断胃癌患者预后的一个潜在的独立指标。OPN 在体内及体外的功能研究也证明 OPN 可作为胃癌防治的潜在靶点,但关于 OPN 在肿瘤细胞和肿瘤微环境之间介导的多重生物学作用中的许多细节仍需要我们进一步探索研究。虽然它对许多肿瘤的重要性得到广泛的研究和证明,但关于 OPN 在肿瘤治疗方面取得的进展仍没有临床试验研究;血清 OPN 作为胃癌诊断和进展判定的标记物,其截断值尚有差异等问题需要解决。在正常的组织器官也会表达一定水平的 OPN,把 OPN 作为防治靶点,抑制其表达还应考虑对正常细胞功能的影响。因此,更进一步了解 OPN 在胃癌中的功能和影响,更清楚地阐述两者的关系,有助于探索出更好的针对胃癌的治疗方法。

参 考 文 献

- [1] Leung WK, Wu M, Kakugawa Y, et al. Screening for gastric cancer in Asia: current evidence and practice[J]. *Lancet Oncol*, 2008, 9(3): 279-287.
- [2] Senger DR, Wirth DF, Hynes RO. Transformed mammalian cells secrete specific proteins and phosphoproteins[J]. *Cell*, 1979, 16(4): 885.
- [3] Franzen A, Heinegård D. Isolation and characterization of two sialoproteins present only in bone calcified matrix[J]. *Biochem J*, 1985, 232(3): 715.
- [4] Christensen B, Petersen TE, Sørensen ES. Posttranslational modification and proteolytic processing of urinary osteopontin[J]. *Biochem J*, 2010, 411(1): 53-61.
- [5] Anborgh PH, Mutrie JC, Tuck AB, et al. Role of the metastasis - promoting protein osteopontin in the tumour microenvironment[J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(8): 2037-2044.
- [6] Blasberg JD, Goparaju CM, Pass HI, et al. Lung cancer osteopontin isoforms exhibit angiogenic functional heterogeneity[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2010, 139(6): 1587-1593.
- [7] He B, Mirza M, Weber G. An osteopontin splice variant induces anchorage independence in human breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2005, 25(15): 2192-2202.
- [8] Junnila S, Kokkola A, Mizuguchi T, et al. Gene expression analysis identifies over-expression of CXCL1, SPARC, SPP1, and SULF1 in gastric cancer. *Genes[J]. Gene Chromosomes Cancer*, 2010, 49(1): 28-39.
- [9] Zhang X, Tsukamoto T, Mizoshita T, et al. Expression of osteopontin and CDX2: indications of phenotypes and prognosis in advanced gastric cancer[J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(3): 609-613.
- [10] Imano M, Satou T, Itoh T, et al. Immunohistochemical expression of osteopontin in gastric cancer[J]. *J Gastrointest Surg*, 2009, 13(9): 1577-1582.
- [11] Wu CY, Wu MS, Chiang EP, et al. Elevated plasma osteopontin associated with gastric cancer development, invasion and survival[J]. *Gut*, 2007, 56(6): 782-789.
- [12] Higashiyama M, Ito T, Tanaka E, et al. Prognostic significance of osteopontin expression in human gastric carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(12): 3419-3427.
- [13] Dai N, Bao Q, Lu A, et al. Protein expression of osteopontin in tumor tissues is an independent prognostic indicator in gastric cancer[J]. *Oncology*, 2007, 72(1-2): 89-96.
- [14] Servais EL, Suzuki K, Colovos C, et al. An in vivo platform for tumor biomarker assessment[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26722.
- [15] Shevde LA, Das S, Clark DW, et al. Osteopontin: an effector and an effect of tumor metastasis[J]. *Curr Mol Med*, 2010, 10(1): 71-81.
- [16] 孙现军, 左文述, 马恒, 等. 骨桥蛋白 mRNA 在胃癌中的表达及其临床意义[J]. *中华肿瘤杂志*, 2005, 27(5): 292-295.
- [17] Jiang BH, LZ Liu. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis[J]. *Adv cancer Res*, 2009, 102: 19-65.
- [18] Yang MH, Wu KJ. TWIST activation by hypoxia inducible factor-1 (HIF-1): implications in metastasis and development[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(14): 2090-2096.
- [19] Luqman S, Pezzuto JM. NFκB: a promising target for natural products in cancer chemoprevention[J]. *Phytother Res*, 2010, 24(7): 949-963.
- [20] Gong M, Lu Z, Fang G, et al. A small interfering RNA targeting osteopontin as gastric cancer therapeutics[J]. *Cancer Lett*, 2008, 272(1): 148-159.
- [21] 孙现军, 姜希宏, 侯文红, 等. 骨桥蛋白与 MMP-9 在胃癌中的表达及其与临床病理特征的关系[J]. *肿瘤防治杂志*, 2003, 10(4): 370-372.
- [22] Likui W, Hong W, Shuwen Z, et al. The potential of osteopontin as a therapeutic target for human colorectal cancer[J]. *Gastrointest Surg*, 2011, 5(4): 652-659.
- [23] Georges R, Adwan H, Zhivkova M, et al. Regulation of osteopontin and related proteins in rat CC531 colorectal cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2010, 37(2): 249.
- [24] BS Sun, Dong QZ, Ye QH, et al. Lentiviral-mediated miRNA against

- osteopontin suppresses tumor growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2008, 48(6): 1834-1842.
- [25] Tang H, Wang J, Bai F, et al. Positive correlation of osteopontin, cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in gastric cancer[J]. *Cancer Invest*, 2008, 26(1): 60-67.
- [26] Zagani R, Hamzaoui N, Cacheux W, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitors down-regulate osteopontin and Nr4a2-new therapeutic targets for colorectal cancers[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(4): 1358-1366. e3.
- [27] Minai-Tehrani A, Jiang HL, Kim YK, et al. Suppression of tumor growth in xenograft model mice by small interfering RNA targeting osteopontin delivery using biocompatible poly (amino ester) [J]. *Int J Pharm*, 2012.
- [28] Zhao B, Sun T, Meng F, et al. Osteopontin as a potential biomarker of proliferation and invasiveness for lung cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(7): 1061-1070.
- [29] Talbot LJ, Mi Z, Bhattacharya SD, et al. Pharmacokinetic characterization of an RNA aptamer against osteopontin and demonstration of in vivo efficacy in reversing growth of human breast cancer cells[J]. *Surgery*, 2011, 150(2): 224-230.
- [30] Dai J, Li B, Shi J, et al. A humanized anti-osteopontin antibody inhibits breast cancer growth and metastasis in vivo[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2010, 59(3): 355-366.
- [31] Tang H, Wang J, Bai F, et al. Inhibition of osteopontin would suppress angiogenesis in gastric cancer[J]. *Biochem Cell Biol*, 2007, 85(1): 103-110.
- [32] Wang ZM, Cui YH, Li W, et al. Lentiviral-mediated siRNA targeted against osteopontin suppresses the growth and metastasis of gastric cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(4): 997.

(收稿日期: 2014-01-14)

(本文编辑: 马超)

刘美红, 贺海平. 骨桥蛋白: 胃癌生物标记物及防治新靶点 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2014, 8(5): 960-963.

