

[文章编号] 1007-385X(2006)06-0475-03

## 人类自然杀伤细胞免疫突触的研究进展

### Natural killer cell immunological synapse: A progress

商平平<sup>1</sup>综述; 张彩<sup>1,2</sup>审阅(1. 山东省医学科学院 基础医学研究所, 济南 250062; 2. 山东大学 药学院 免疫药理与免疫治疗研究所, 济南 250012)

**[摘要]** NK细胞识别靶细胞时在接触表面形成大量的超分子集落, 结构上与神经突触相似, 称为NK细胞免疫突触。NK细胞抑制性受体和活化性受体分别与相应的配体结合形成抑制性免疫突触与活化性免疫突触。免疫突触的成熟是一个伴随着大量分子重新组合和隔离分布的动态过程。很多因素可以影响它的形成, 其中肌动蛋白聚合抑制剂细胞松弛素C等可以明显抑制早期抑制性突触的形成, 活化性突触中脂筏向细胞间接触点极化能够为大量活化性信号提供一个锚定平台。免疫突触可以促进细胞间的接触、提供细胞间信号传递的平台、参与活化检查节点的形成。进一步对其结构、形成过程、信号整合等进行探讨将为提高NK细胞抗肿瘤和抗病毒治疗效果提供新的策略。

**[关键词]** 自然杀伤细胞; 活化性免疫突触; 抑制性免疫突触; 主要组织相容性复合体; 抗肿瘤

**[中图分类号]** R392.12 **[文献标识码]** A

生物体许多重要功能的完成, 包括信息传递、信号分子交换、免疫应答的启动和维持, 很大程度上取决于细胞间的相互作用<sup>[1-3]</sup>。很多研究强调, 受体-配体分子的特异性识别结合是细胞间相互识别和信号传导的基础<sup>[3,4]</sup>。但在一些情况下, 仅靠完整的受体-配体分子特异性结合并不足以完成细胞间相互识别和随后触发的特异性应答过程。

神经突触是已被证实存在于神经元之间、神经元与腺细胞或腺上皮细胞间进行信号传递的特殊结构。它以一种静态存在、长期维持的信号传导方式, 使信号从前一个细胞传递给后一个细胞, 从而实现两神经细胞间的功能联系。1999年美国科学家Grakoui及其同事<sup>[5-8]</sup>在Monks等人的研究基础上进一步研究T细胞的活化过程, 发现在T细胞与靶细胞接触表面同样存在大量微米大小的细胞因子分泌物, 呈高度动态重组和隔离分布, 与神经突触在结构和功能上相似, 故称为T细胞免疫突触<sup>[9-10]</sup>。这一里程碑意义的发现使免疫突触这一概念得到了推广, 并促进了影像免疫学的发展。后来在B细胞、NK细胞和靶细胞间也发现有免疫突触存在, 通过这种细胞间的相互作用控制着后续的免疫应答过程。其作用随环境变化表现为直接分泌蛋白因子、启动活化性或抑制性信号、整合正负信号为NK细胞活化提供检查节点, 促进免疫细胞间的接触等<sup>[3,9]</sup>。

#### 1 NK细胞免疫突触的分类

NK细胞是一种大颗粒淋巴细胞, 在早期免疫监视中发挥重要作用, 对肿瘤、病毒及其他胞内病原体入侵有强大的防御能力。NK细胞表面同时表达多种活化性和抑制性受体, 分别与靶细胞上相应配体形成NK细胞活化性或抑制性免疫突触, 在NK细胞信号传导和功能发挥中起重要作用。

当NK细胞与正常组织细胞接触时, 表面抑制性受体与相应配体结合, 在接触表面形成大量时间、空间依赖性超分

子集落, 形成NK细胞抑制性免疫突触<sup>[9]</sup>。成熟的NK细胞抑制性免疫突触中, HLA I类分子和杀伤抑制性受体(KIR)形成外周超分子抑制集落(peripheral supramolecular inhibition cluster, pSMIC)环形包绕淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)和细胞内黏附分子-1(ICAM-1)形成的中央超分子抑制集落(central supramolecular inhibition cluster, cSMIC), 这种分子的布局与成熟NK细胞活化性免疫突触和小鼠成熟T细胞活化性突触中的分子定位相反<sup>[11,13]</sup>。当NK细胞与异常靶细胞接触时, 其表面活化性受体与相应配体识别结合, 形成NK细胞活化性免疫突触<sup>[14-15]</sup>。成熟的NK细胞活化性免疫突触中, 活化性受体NKG2D及其配体分子ULBP1、2、3(UL16-binding protein)或MHC类分子MICA(MHC class I chain-related A)和穿孔素聚集于中央环状区域, 形成中央超分子活化集落(central supramolecular activation cluster, cSMAC), CD2、LFA-1、线型肌动蛋白(F-actin)、CD11b(Mac1)形成外周超分子活化集落(peripheral supramolecular activation cluster, pSMAC)包绕中央环状区域。

NK细胞与靶细胞接触, 可以通过免疫突触进行自发性膜蛋白分子转移<sup>[16-17]</sup>。效应细胞可以从靶细胞或抗原提呈细胞表面获取MHC/肽分子、共刺激分子等。对NK细胞抑制性免疫突触进一步研究发现, 在靶细胞与NK细胞之间存在双向选择性膜蛋白分子转移<sup>[18]</sup>, 多种膜蛋白分子也可选择性地从NK细胞转移到靶细胞上, 如KIR2DL1受体能转移到表达相应MHC I类分子的靶细胞上, 其获取量与靶细胞

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 30371302, 30471572); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金资助项目(No. 2005 BS03015)

**[作者简介]** 商平平(1981-), 女, 山东省烟台人, 硕士, 主要从事肿瘤免疫学方面的研究

**[通讯作者]** 张彩, E-mail: caizhangsd@yahoo.com.cn

上 MHC I 类分子的表达水平呈正相关,但两细胞间胞质成分不发生转移。靶细胞上获得的 KIR 与磷酸化酪氨酸共定位于胞膜上,KIR 通过胞质部分结合蛋白酪氨酸磷酸酶-1 (SHP-1)使酪氨酸脱磷酸,终止活化信号。这种分子转移受肌动蛋白抑制剂的影响,经细胞松弛素 B 或 D 处理过的靶细胞能明显抑制靶细胞获取 KIR,却促进 HLA 向 NK 细胞转移。

## 2 NK 细胞免疫突触形成的时间动力学

免疫突触的形成不是简单的物理接触过程,而是由伴随膜分子和骨架蛋白等一系列改变的有序阶段组成<sup>[19]</sup>。含 Src 同源序列的酪氨酸磷酸酶 (Src homology 2-containing protein tyrosine phosphatase-1, SHP-1),是 NK 细胞抑制性受体信号传递过程中重要的酪氨酸磷酸酶,其活化后可使 CD3 $\zeta$ 、IAP 或 PLC $\gamma$  去磷酸,通过抑制免疫受体酪氨酸活化基序 (ITAM)介导途径而实现免疫抑制作用。有研究表明 SHP-1 在短时间内的 (1 min)空间定位决定 NK 细胞形成突触类型:活化性突触或抑制性突触<sup>[13,19]</sup>。

在大多数 NK 细胞抑制性免疫突触形成的早期 (1 min)<sup>[12,19]</sup>,大量 SHP-1、穿孔素、Ick 向细胞间接触表面极化,Ick 形成两三个散在的集落包绕位于外周的穿孔素,部分 SHP-1 与 KIR 聚集于中央区域,脂筏从细胞间接触位点排出,LFA-1 快速聚集于外周区域包绕 SHP-1。5 min 后,Ick 重新分布到外周,穿孔素移动到中央。10 min 时,KIR、SHP-1 的中央聚集形式大部分溶解消失,LFA-1 由外周的聚集状态均质分布到整个突触中,穿孔素溶解,Ick 分散成多个小集落很快降低到初始水平。但仍有一小部分 KIR、SHP-1 在中央区域聚集,可能与下一次抑制性突触形成有关。成熟的抑制性免疫突触中未发现新招募的分子,只是发生分子的迁移和重分布。

在 NK 细胞活化性免疫突触形成早期 (1 min),穿孔素、Ick、SHP-1 也向细胞间突触极化,穿孔素、脂筏向突触的中央区域聚集,SHP-1、Ick 和 LFA-1 呈环形分布在外周区域。其表面的抑制性受体呈均质分布而不出现任何特定形式的聚集。5 min 时,PKC- $\theta$ 、SLP-76、溶酶体也极化到细胞接触表面。随着时间的推移 (10 min 后),SHP-1 迅速向突触中心迁移,与结合大量活化信号的脂筏一起定位于中央区域,LFA-1 仍停留在外周,穿孔素不溶解,Ick 聚集于中央区域,形成成熟的活化性免疫突触。这时抑制性受体从分泌型溶酶体聚集的突触中心亚结构域中清除。这种分子的迁移与重排使 SHP-1 和 LFA-1 在突触早期形成的外周环形区域中的分布量远高于中央区域,在成熟期脂筏与 SHP-1 大量聚集于中央区而 LFA-1 存在于外周环。因此,根据突触中蛋白分子定位的时间差异和微结构区的空间排布可以区分早期和成熟期 NK 细胞活化性突触。

## 3 影响 NK 细胞免疫突触形成的因素

### 3.1 肌动蛋白的聚合作用

肌动蛋白的聚合作用对 NK 细胞免疫突触的形成及 NK 细胞杀伤活性的启动具有重要意义<sup>[20]</sup>。Daniel 等<sup>[9]</sup>发现用标准的新陈代谢抑制剂 (叠氮化合物、抗霉素 A、2-脱氧葡萄糖、鱼藤酮等)去除 NK 细胞和靶细胞内 43% ~ 97% 的 ATP,用细胞松弛素 C 或 D 破坏肌动蛋白的聚合作用或用秋水仙碱抑制微管蛋白的聚合,均不能降低 NK 细胞抑制性免疫突触形成的数量,从而认为它们对抑制性突触的形成没有影响。但新近的研究表明,在 NK 细胞抑制性突触形成早期,细胞松弛素 C 或 D 能明显抑制 HLA-C 和 KIR 在突触中的聚集,但这一作用在与靶细胞共培养 40 min 后消失,说明细胞松弛素 C 或 D 能影响早期抑制性突触的形成,但对晚期抑制性突触的形成影响不大。

在 NK 细胞活化性免疫突触中,用细胞松弛素 D 抑制肌动蛋白的聚合作用,发现 CD2、LFA-1 (CD11a)、Macl (CD11b)、穿孔素、线型肌动蛋白的极化完全被抑制,且突触形成的数量明显减少。因此,肌动蛋白对维持活化性突触形成、黏附分子向外周区域极化以及穿孔素向中央区域的移动必不可缺。用秋水仙碱抑制微管蛋白的聚合,活化性突触中的 CD2、LFA-1、Macl、线型肌动蛋白的极化没有受到影响,但穿孔素的极化却受到严重损害。说明穿孔素极化到活化性突触的中央区域需要肌动蛋白和微管蛋白的双重作用,而表面分子的极化只需要肌动蛋白的作用。

### 3.2 脂筏

脂筏是一种细胞膜结构微域,以富含胆固醇和具有长饱和脂酰基侧链的鞘糖脂而不同于周围细胞膜。此独特成分使脂筏呈脂状相而不是通常的液晶相。脂筏中的脂蛋白比要高于周围膜区的脂蛋白比。脂筏的功能是聚集或分隔膜蛋白并向细胞膜分选脂蛋白,这些脂蛋白对信号分子跨膜信号的传导及细胞表面的极化有重要作用。它可以通过调节 TCR 或 BCR 信号的传递而影响 T、B 细胞活化、分化和分泌细胞因子。

在 NK 细胞活化性免疫突触中,脂筏向细胞间接触位点极化,为大量活化性信号提供一个锚定平台<sup>[10,21]</sup>。活化性受体 2B4 与相应配体结合后,在细胞骨架蛋白的作用下易位到脂筏上,磷酸化后启动活化性信号级联反应,启动 NK 细胞活性。在 NK 细胞活化性突触中,ATP、脂筏的极化、细胞骨架的转运为活化性受体极化所必需。在 NK 细胞抑制性免疫突触中,抑制性受体 CD94/NKG2A 与相应配体结合后,诱导脂筏从细胞间接触位点排出<sup>[22]</sup>,这对于抑制活化性信号传导有重要作用。当 KIR 与活化信号共存时,KIR 能阻断 2B4 极化定位于脂筏,使 2B4 不能被磷酸化产生活化信号,从而不表现为杀伤作用。在抑制性突触中,KIR 的极化不需要 ATP、脂筏极化、细胞骨架的转运。

NK 细胞抑制性突触中抑制性受体的极化、受体配体分子的稳定结合、脂筏的排出对于维持抑制性信号的空间定位、阻抑活化性信号的传导极为重要。它保证 NK 细胞只对异常靶细胞进行杀伤溶解而对正常组织细胞不发挥作用。

### 3.3 由胞外结构域大小决定的接头蛋白隔离分布

Wild 等<sup>[11,23-24]</sup>发现突触中分子的隔离分布与接头蛋白间键长直接相关。在 T 细胞突触中, TCR-MHC 和 CD2-CD48 分子间键长约 14 ~ 15 nm, LFA-1 和 ICAM-1 之间键长为 41 nm。证明接触面的深度与分子定位有关, 短键长的分子定位于紧密接触的区域, 所以 TCR-MHC 和 CD2-CD48 位于中央区域而 LFA-1/ICAM-1 被排斥在外周区域。研究发现, 突触间隙(靶细胞与效应细胞接触界面间距离)可随接头蛋白大小发生改变, 形成宽窄不一致的区域。用电镜分别观察转染 221/CW6-GFP 与 YTS/KIR2DL1 形成的抑制性免疫突触和 221/CW3-GFP 与 YTS/KIR2DL1 形成的活化性免疫突触发现, 尽管活化性免疫突触间隙大小为 10-55 nm, 抑制性免疫突触间隙大小为 10 ~ 42 nm, 大多数突触间隙变化范围在 10 ~ 30 nm 之间, 在活化性免疫突触中只有很少部分区域间隙超过 30 nm, 可能这个宽度足以容纳聚集的分子; 在 HLA-C-GFP 聚集处突触间隙只有(14.5 ± 2.2) nm, 正好与 KIR-HLA-C 分子胞外区大小相吻合, 说明除细胞骨架介导的分子迁移外, 胞外结构域大小决定接头蛋白隔离分布。

#### 4 NK 细胞免疫突触的功能

免疫突触的形成成为 NK 细胞活化提供检查节点: NK 细胞的免疫监视作用受活化性和抑制性信号的平衡调节, 免疫突触的形成需要不同的细胞骨架、信号分子的参与, 为细胞间检查节点提供框架。NK 细胞抑制性突触中脂筏从接触位点排出, 使抑制性信号占优势, 从而保护正常细胞不被杀伤。

NK 细胞免疫突触的形成成为信号分子的传导提供空间结构区域: NK 细胞抑制性突触中靶细胞与 NK 细胞结合, 能诱导 KIR 在 NK 细胞抑制性突触中聚集并磷酸化受体和蛋白 SHP-1, 所有 KIR 介导的抑制性作用都是通过招募和活化位于胞质中的 SHP-1 结合到受体胞浆部分的免疫受体酪氨酸抑制基序(ITIM)来实现, 在抑制性突触形成早期, SHP-1 迅速移动到中央区域, 通过结合 ITIM 的抑制信号从而抑制 NK 细胞的活性。异常靶细胞与 NK 细胞结合时, SHP-1 远离中央区域, 大量活化性受体、黏附分子结合于脂筏上, 通过结合活化受体胞质部分的免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM), 活化 NK 细胞产生杀伤作用。

NK 细胞免疫突触的形成可以促进细胞间接触: NK 细胞受体诱导相应配体在突触中大量聚集, 靠分子间化学键的作用使细胞形成稳定结合。大量的黏附分子的聚集使细胞间的接触更为紧密, 从而易于高效传递细胞间的活化或抑制信号。同时, 免疫突触的形成成为多种受体的活化提供了良好的接触面, 如细胞因子信号得以加强, 促进 NK 细胞各种细胞因子的分泌。

#### 5 展望

目前, T 细胞免疫突触的研究, 已从分子结构、信号传导、活化机制等多个层面的分析中得到了一些较为肯定的结论。而 NK 细胞免疫突触的研究尚处于起步阶段, 许多实验室和研究人员都投入了大量精力对其进行深入探讨, 提出了

一些新观点, 如 NK 细胞免疫突触不同于 T 细胞免疫突触的分子空间排布与定位重组, NK 细胞抑制性免疫突触与活化性免疫突触有不同的活化机制, NK 细胞通过免疫突触可以进行双向选择性膜分子转移, NK 细胞抑制性突触中脂筏的排出对活化信号的抑制作用等。但仍有很多问题有待研究, 如 NK 细胞表面表达多种活化性和抑制性受体, 所形成的活化与抑制性突触之间的相互影响和调节, 其活化和抑制性信号是如何整合的等等。对 NK 细胞免疫突触的结构、形成过程及其功能进行深入研究将有助于阐明 NK 细胞识别和活化机制, 并为提高 NK 细胞抗肿瘤和抗病毒治疗效果提供新的策略。

#### [参考文献]

- [1] Wetzel SA, Mckeithan TW, Parker DC, *et al.* Live-cell dynamics and the role of costimulation in immunological synapse formation [J]. *J Immunol*, 2002, 169(11): 6092-6101.
- [2] Dustin ML. Membrane domains and the immunological synapse: Keeping T cells resting and ready [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(2): 155-160.
- [3] Davis DM, Dustin ML. What is the importance of the immunological synapse [J]? *Trends Immunol*, 2004, 25(6): 323-327.
- [4] Purdie B, Pitcher LA, van Oers NS, *et al.* T cell receptor (TCR) clustering in the immunological synapse integrates TCR and costimulatory signaling in selected T cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(8): 2904-2909.
- [5] Grakoui A, Bromley SK, Sumen C, *et al.* The immunological synapse: A molecular machine controlling T cell activation [J]. *Science*, 1999, 285(5425): 207-208.
- [6] Pacheco R, Martinez-Navio JM, Lejeune M, *et al.* CD26, adenosine deaminase, and adenosine receptors mediate costimulatory signals in the immunological synapse [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(27): 9583-9588.
- [7] Faroudi M, Utzny C, Salio M, *et al.* Lytic versus stimulatory synapse in cytotoxic T lymphocyte/target cell interaction: Manifestation of a dual activation threshold [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(24): 14145-14150.
- [8] Wulfig C, Davis MM. A receptor/cytoskeletal movement triggered by costimulating during T cell activating [J]. *Science*, 1998, 282(5397): 2266-2269.
- [9] Davis DM, Chin I, Fassett M, *et al.* The human natural killer cell immune synapse [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(26): 15062-15067.
- [10] Vyas YM, Maniar H, Lyddane CE, *et al.* Ligand binding to inhibitory killer cell Ig-like receptors induce colocalization with Src homology domain 2-containing protein tyrosine 1 and interruption of ongoing activation signals [J]. *J Immunol*, 2004, 173(3): 1571-1578.
- [11] Lin J, Miller MM, Shaw AS, *et al.* The c-SMAC: Sorting it all out (or in) [J]. *J Cell Biol*, 2005, 170(2): 177-182.
- [12] Orange JS, Harris KE, Andzelm MM, *et al.* The mature activating (下转第 480 页)

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2006 )06-0478-03

## 骨桥蛋白及其在卵巢癌临床上应用的研究进展

### Clinical study of osteopontin in ovarian cancer: An advance

陈慧雁<sup>1</sup>综述,杨幼易<sup>1</sup>,董建春<sup>2</sup>审阅( 1. 南京医科大学附属无锡市妇幼保健院肿瘤科,江苏 无锡 214002; 2. 山东大学临床医学院暨济南市中心医院妇产科,济南 250013 )

[ 摘要 ] 骨桥蛋白( osteopontin, OPN )是一种磷酸化酸性糖蛋白分子,人体的破骨细胞、巨噬细胞、T 细胞、以及血管平滑肌细胞等均可分泌 OPN,其基因定位于染色体 4q13。OPN 具有细胞黏连蛋白的功能,可以与 CD44、整合素  $\alpha_v\beta_3$  以及  $\alpha_v\beta_5$  结合,OPN 还参与骨质重建、新血管生成和炎症反应;OPN 在肿瘤转移中起协同作用。在卵巢癌的早期诊断和预后监测方面可作为 CA125 以及其他细胞因子等标志物的补充。检测方法可望更简便。在基因转录水平上抑制 OPN 及其主要受体可能成为治疗肿瘤的新药物靶点。

[ 关键词 ] 骨桥蛋白; 卵巢肿瘤; 生物学标志物

[ 中图分类号 ] R730 [ 文献标识码 ] A

卵巢癌病死率居妇科肿瘤之首,约 2/3 患者确诊时已届 III 期或 IV 期,其 5 年生存率 < 25%。而 I / II 期卵巢癌的 5 年生存率可达 70% ~ 90%。CA125 是 1981 年 Bast 等<sup>[1]</sup>通过免疫学方法发现的卵巢癌生物学标志物,目前临床应用广泛,但用于诊断和监测预后时敏感性和特异性较低,尤其是诊断早期卵巢癌时,40% ~ 50% 的 I / II 期患者 CA125 是不升高的<sup>[2]</sup>。人激肽释放酶( human kallikrein, hK )家族是目前研究较热的卵巢癌生物学标志物之一,将 hK6 或 hK10 分别与 CA125 结合应用,hK6 仅能使 I / II 期卵巢癌诊断的敏感达到 42%; hK10 可使 CA125 诊断 I / II 期卵巢癌的敏感性提高 21%<sup>[3]</sup>。因此,需要寻找更好的卵巢癌生物学标志物。骨桥蛋白( osteopontin, OPN )是新近发现的卵巢癌生物学标志物之一。本文就 OPN 在卵巢癌早期诊断和预后监测中的应用作一综述。

### 1 OPN 的生物学功能

OPN 是含有精氨酸 - 甘氨酸 - 天冬氨酸( Arg - Gly - Asp, 简称 RGD 结构)残基的磷酸化酸性糖蛋白分子,相对分子质量约为 325 000。人体的破骨细胞、被激活的巨噬细胞、T 细胞、肾以及血管平滑肌细胞等都可以分泌 OPN。人类 OPN 基因定位于染色体 4q13<sup>[4]</sup>,由 7 个外显子和 6 个内含子构成,其分子结构由信号肽序列、7 ~ 10 个连续 Asp 序列、RGD 结构域、 $\alpha_v\beta_1/\alpha_4\beta_1$  结构域和肝素结合结构域构成。分子中部的区域可被凝血酶等多种蛋白酶分成两个功能区, N 端片段经磷酸化后可以和整合素受体结合,尤其是对整合素  $\alpha_v\beta_3$  和  $\alpha_v\beta_5$  特异性较强; C 端和黏附分子 CD44 及其剪接变体 v6 结合,其 170 和 300 位氨基酸残基上的两个肝素结合位点能与 CD44v3 变体形成一个联结桥。另外,在 RGD 片段和 CD44 结合位点之间含有整合素  $\beta_1$  识别位点。在肿瘤发生过程中, N 端的功能区与肿瘤播散有关; C 端的功能区与免疫逃逸有关; RGD 结构对于 OPN 的黏附功能起着重要

作用。

在生理状态下, OPN 促进成骨细胞样细胞和成纤维细胞贴附于细胞外基质上<sup>[5]</sup>。OPN 通过 RGD 序列识别并与破骨细胞膜上  $\alpha_v\beta_3$  结合,活化酪氨酸激酶,从而促进破骨细胞极化,使骨质吸收和重建得以进行; 微生物感染时, OPN 刺激巨噬细胞和淋巴细胞发挥非特异性免疫反应。

OPN 在应激性的血管生成中起着重要作用,其受体与血管重建关系密切。在机体受到创伤或发生缺氧等应激状态之后, OPN 参与诱导应激性的血管生长,而整合素  $\alpha_v\beta_3$  和 OPN 的共同表达可以刺激内皮细胞迁移。OPN 与整合素  $\alpha_v\beta_3$  的结合可以阻止细胞凋亡,这种抑制依赖于 Ras 和 Src 基因的功能,是通过活化核因子  $\kappa B$ ( NF -  $\kappa B$  ) $P_{50}$  和  $P_{65}$  引起的<sup>[6]</sup>。在裸鼠皮下分别注射转染了 OPN 基因的 C1300 细胞和未转染的 C1300 细胞,发现实验组肿瘤比对照组肿瘤生长迅速,实验组肿瘤内新生血管明显增多,从而证明了 OPN 在生物体内肿瘤生长过程中新生血管形成机制中所起的作用<sup>[7]</sup>。OPN 可阻止多种原因导致的细胞凋亡,巨噬细胞吞噬细菌以后产生的 OPN 还可通过抗氧化作用抑制巨噬细胞自身凋亡; OPN 与 T 细胞抗原受体结合还可抑制 T 细胞的凋亡<sup>[8]</sup>。

### 2 OPN 与肿瘤转移的关系

OPN 作为一种细胞因子,在巨噬细胞、淋巴细胞归巢中起着重要作用。目前一般认为,肿瘤细胞发生转移时充分利用了 OPN 的相关功能。OPN 受体整合素  $\alpha_v\beta_3$  在肿瘤转移过程中所起的作用可能表现在以下 3 个方面:( 1 )在病理状态下,内皮细胞中的 OPN 与  $\alpha_v\beta_3$  或细胞外基质结合,介导了细胞黏附和迁移,激活了 NF -  $\kappa B$ 、GTP 结合蛋白 Ras 和酪氨酸

[ 作者简介 ] 陈慧雁( 1969 - ),女,山东省泰安市人,主治医师,主要从事妇科肿瘤方面的研究

[ 通讯作者 ] 董建春, E-mail: dongjianchun1964@ yahoo. com. cn

激酶 Src<sup>[6]</sup>,有利于肿瘤转移;(2)整合素  $\alpha_5\beta_3$  在多种高转移性恶性肿瘤细胞中表达,介导肿瘤的迁移和侵袭机制;(3)对于内皮细胞,整合素  $\alpha_5\beta_3$  的结合促进肉芽组织形成,并在此基础上诱导血管再生。新血管的建立可以促进细胞迁移、黏附、阻止细胞凋亡,有利于肿瘤细胞生长。此外,尽管整合素  $\alpha_5\beta_3$  自身不足以诱导肿瘤侵袭,但其与胰岛素样生长因子的协同作用可促进肿瘤转移<sup>[9]</sup>。OPN 的低表达可明显降低肿瘤生成和转移潜能,血浆 OPN 正常参考值为 14~64 ng/ml,若显著大于此值,则提示乳腺癌已转移<sup>[10]</sup>。对于乳腺癌的研究,已经证实了 OPN 表达与肿瘤的恶性程度和患者的生存相关<sup>[11]</sup>。

### 3 OPN 与卵巢癌的诊断

Kim 等<sup>[12]</sup>利用 ELISA 法对 107 例健康妇女、46 例良性卵巢疾病、47 例其他妇科癌症患者以及 51 例上皮性卵巢癌患者的血清进行 OPN 检测,发现 51 例卵巢癌患者术前血浆 OPN 水平(486.5 ng/ml)显著高于其他 3 组患者,而且与宫颈癌和子宫内膜癌相比也有明显升高。同时还发现,在浆液性、黏液性、透明细胞性和内膜样卵巢癌患者血清中 OPN 表达无显著性差异,以 252  $\mu\text{g/ml}$  作为截尾值,血清 OPN 在检测卵巢癌中的检出率达 80.4%,在 I/II 和 III/IV 期卵巢癌患者血清中的检出率分别达 80.4% 和 85.4%。OPN 的免疫定位表明,61 例浸润性卵巢癌和 29 例交界卵巢肿瘤的 OPN 表达水平高于 6 例良性肿瘤和 3 例健康卵巢上皮组织。这就为 OPN 水平作为卵巢癌生物标志物的可能性提供了依据。

但是,Brakora 等<sup>[13]</sup>评价了 234 例施行卵巢切除术后的卵巢癌患者和 38 例健康对照者的血清样本发现,前者血清 OPN 反而低于对照组,可能是因其血浆/血清中的 OPN 主要来源于原发肿瘤或相关联的卵巢间质,而且正常卵巢或大网膜也可产生 OPN。在 65 例弱表达或不表达 CA125 的卵巢癌中,包括 OPN、VEGF、HK10 和 DF3 等的 10 种标志物中每种检出率在 29%~100% 之间<sup>[14]</sup>。Ye 等<sup>[15]</sup>发现早期卵巢癌患者尿液中的修饰型嗜酸性粒细胞源性神经毒素和 OPN 片段增加,并且两者结合后具有 93% 的检出率和 72% 的敏感性,可用于早期卵巢癌的非侵袭性筛查。Mor 等<sup>[16]</sup>同时测定了上皮性卵巢癌中瘦素、泌乳素、骨桥蛋白和胰岛素生长因子-II,发现其中单种蛋白不能完全区分卵巢癌与正常对照组,但是,将这 4 种蛋白结合起来分析时,其检出率、敏感性和阳性预测值均为 95%,阴性预测值为 94%。

最近,Nakae 等<sup>[17]</sup>发现 IV 期卵巢癌及合并腹水者比无腹水以及分期低的患者的术前血浆 OPN 水平明显升高,其用于检测卵巢癌时的检出率为 81.3%,与 CA125 结合后敏感性升至 93.8%,而单独应用 CA125 时敏感性为 84.4%。OPN 的特异性为中等。因此,OPN 特别适合作为 CA125 的补充来检测卵巢癌。

### 4 OPN 与卵巢癌的预后

许多肿瘤在发展过程中伴随有 OPN 的表达,而且这些表

达 OPN 的肿瘤也更容易表现出侵袭、转移的倾向,因此有可能把测定血清 OPN 作为一种无创性判断肿瘤患者预后的方法。在 234 例接受卵巢切除术的卵巢癌患者(203 例复发性卵巢癌和 31 例新确诊卵巢癌患者)中,血清 OPN 的水平与疾病复发以及好转、腹水的存在与否、肿块体积大小相关,CA125 值的趋势与 OPN 相一致,但是 CA125 的统计学差异更为显著。因此,在 CA125 阴性患者中,OPN 测试的实用性值得探讨<sup>[13]</sup>。在 38 例卵巢癌中,手术前 OPN 的中值是 178 ng/ml(范围 12~3 468 ng/ml),CA125 的中值是 812 U/ml(范围 12~81 500 U/ml)。治疗过程中 OPN 值有下降趋势,但是 CA125 的下降与病情更具有-致性,OPN 和 CA125 的二次函数趋势均具有很高的显著性。虽然 OPN 在预测治疗过程中的临床反应方面不及 CA125,但是在 90% 的复发性卵巢癌中 OPN 的升高先于 CA125(中位领先时间 3 个月)。因此,OPN 在监测复发性卵巢癌方面可能是 CA125 的有益补充<sup>[18]</sup>。

### 5 展望

象许多新的肿瘤标志物一样,目前对于 OPN 在卵巢癌中的作用尚无定论。综合当前文献,OPN 作为肿瘤转移机制的重要参与者,其在卵巢癌中的表达、外周血浓度及受体水平,均可作为无创性肿瘤筛查的指标。Mok<sup>[19]</sup>用 ELISA 方法检测了不同人群尿样中的 OPN,结果表明其检出率和敏感性分别达 92% 和 62%。若将尿中的 OPN 与 CA125 等血清标志物结合应用,可以对早期卵巢癌进行更敏感的检测,也可用来判断患者的预后,成为卵巢癌新的生物学标志物。

在治疗方面,针对 OPN 及其受体从基因启动到信号转导途径的成功干预,将有效地降低肿瘤的生物学恶性程度。OPN 是多种肿瘤播散的关键细胞因子,已有实验<sup>[20]</sup>证明,对于肿瘤细胞的转移,细胞因子 OPN 的过度表达是必要的。OPN 及其主要受体可以在基因转录水平上被抑制,也可以被抗体或者合成肽所阻断。OPN 的受体整合素  $\alpha_5\beta_3$  可促进肿瘤细胞的播散,另外,OPN 的受体 CD44 已经用作各种肿瘤的治疗靶点,包括细胞毒性试验和免疫治疗。因此,OPN 及其主要受体可能成为治疗肿瘤的新药物靶点。总之,OPN 在肿瘤发生和转移中的作用机制有待于进一步深入研究,从而为包括卵巢癌在内的肿瘤诊断、预后及药物研制提供新的理论依据和思路。

### 【参考文献】

- [1] Bast RC Jr, Feeney M, Lazarus H, et al. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma [J]. Clin Invest, 1981, 68(5): 1331-1337.
- [2] Whitehouse C, Solomon E. Current status of the molecular characterization of the ovarian cancer antigen CA125 and implications for its use in clinical screening [J]. Gynecol Oncol, 2003, 88(1Pt 2): S152-157.
- [3] Diamands EP, Scorilas A, Fracchioli S, et al. Human kalikrein 6 (Hk6): A new potential serum biomarker for diagnosis and prognosis of ovarian carcinoma [J]. Clin Oncol, 2003, 21(6): 1035-1043.
- [4] Crosby AH, Edwards SJ, Murray JC, et al. Genomic organization

- of the human osteopontin gene: exclusion of the locus from a causative role in the pathogenesis of dentinogenesis imperfecta type II [ J ]. *Genomics*, 1995, 27( 1 ): 155-160.
- [ 5 ] Oldberg A, Franzen A, Heinegard D. Cloning and sequence analysis of rat bone sialoprotein( osteopontin ) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp-cell-binding sequence[ J ]. *Prog Natl Acad Sci USA*, 1986, 83( 23 ): 8819-8823.
- [ 6 ] Scatena M, Almeida M, Chaisson ML, *et al.* NF- $\kappa$ B mediates  $\alpha_v\beta_3$  integrin-induced endothelial cell survival [ J ]. *J Cell Biol*, 1998, 141( 4 ): 1083-1093.
- [ 7 ] Hiram M, Takahashi F, Takahashi K, *et al.* Osteopontin over produced by tumor cells acts as a potent angiogenic factor contributing to tumor growth [ J ]. *Cancer Lett*, 2003, 198( 1 ): 107-117.
- [ 8 ] Yokosaki Y, Matsuura N, Sasaki T, *et al.* The integrin  $\alpha_9\beta_1$  binds to a novel recognition sequence ( SVVYGLR ) in the thrombin cleaved amino terminal fragment of osteopontin [ J ]. *Biol Chem*, 1999, 274( 51 ): 36328-36334.
- [ 9 ] Brooks PC, Klemke RL, Schon S, *et al.* Insulin 2 like growth factor receptor cooperates with integrin  $\alpha_5\beta_5$  to promote tumor cell dissemination *in vivo* [ J ]. *Clin Invest*, 1997, 99( 6 ): 1390-1398.
- [ 10 ] Tuck AB, O'Malley FP, Singhal H, *et al.* Osteopontin and p53 expression are associated with tumor progression in a case of synchronous, bilateral, invasive mammary carcinomas [ J ]. *Arch Pathol Lab Med*, 1997, 121( 6 ): 578-584.
- [ 11 ] Sung V, Gilles C, Murray A, *et al.* The LCC15-MB human breast cancer cell line expresses osteopontin and exhibits an invasive and metastatic phenotype [ J ]. *Exp Cell Res*, 1998, 241( 2 ), 273-284.
- [ 12 ] Kim JH, Skates SJ, Uede T, *et al.* Osteopontin as a potential diagnostic biomarker for ovarian cancer [ J ]. *J Am Med Assoc*, 2002, 287( 13 ): 1671-1679.
- [ 13 ] Brakora KA, Lee H, Yusuf R, *et al.* Utility of osteopontin as a biomarker in recurrent epithelial ovarian cancer [ J ]. *Gynecol Oncol*, 2004, 93( 2 ): 361-365.
- [ 14 ] Rosen DG, Wang L, Atkinson JN, *et al.* Potential markers that complement expression of CA125 in epithelial ovarian cancer [ J ]. *Gynecol Oncol*, 2005, 99( 2 ): 267-277.
- [ 15 ] Ye B, Skates S, Mok SC, *et al.* Proteomic-based discovery and characterization of glycosylated eosinophil-derived neurotoxin and COOH-terminal osteopontin fragments for ovarian cancer in urine [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12( 2 ): 432-441.
- [ 16 ] Mor G, Visintin I, Lai Y, *et al.* Serum protein markers for early detection of ovarian cancer [ J ]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102( 21 ): 7677-7682.
- [ 17 ] Nakae M, Iwamoto I, Fujino T, *et al.* Preoperative plasma osteopontin level as a biomarker complementary to carbohydrate antigen 125 in predicting ovarian cancer [ J ]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2006, 32( 3 ): 309-314.
- [ 18 ] Schorge JO, Drake RD, Lee H. Osteopontin as an adjunct to CA125 in detecting recurrent ovarian cancer [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10( 10 ): 3474-3478.
- [ 19 ] Mok SC, Ye B, Cramer DW. Methods of detecting ovarian cancer based on osteopontin: USA, 10869027 [ P/OL ], 2004-06-17.
- [ 20 ] Weber GF. The metastasis gene osteopontin: a candidate target for cancer therapy [ J ]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1552( 2 ): 61-85.
- [ 收稿日期 ] 2006-08-20 [ 修回日期 ] 2006-11-09  
[ 本文编辑 ] 韩丹

( 上接第 477 页 )

- natural killer cell immunologic synapse is formed in distinct stages [ J ]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100( 24 ): 14151-14156.
- [ 13 ] Faroudi M, Zaru R, Paulet P, *et al.* Cutting Edge: T lymphocyte activation by repeated immunological synapse formation and intermittent signaling [ J ]. *J Immunol*, 2003, 171( 3 ): 1128-1132.
- [ 14 ] Eleme K, Taner SB, Onfelt B, *et al.* Cell surface organization of stress-inducible proteins ULBP and MICA that stimulate human NK cells and T cells via NKG2D [ J ]. *J Exp Med*, 2004, 199( 7 ): 1005-1010.
- [ 15 ] Bacon L, Eagle RA, Meyer M, *et al.* Two human ULBP/RAET1 molecules with transmembrane regions are ligands for NKG2D [ J ]. *J Immunol*, 2004, 173( 2 ): 1078-1084.
- [ 16 ] Tabiasco J, Vercellone A, Meggetto F, *et al.* Acquisition of viral receptor by NK cells through immunological synapse [ J ]. *J Immunol*, 2003, 170( 12 ): 5993-5998.
- [ 17 ] Poupot M, Fourine JJ. Spontaneous membrane transfer through homotypic synapse between lymphoma cells [ J ]. *J Immunol*, 2003, 171( 5 ): 2517-2523.
- [ 18 ] Vanherberghen B, Andersson K, Carlin LM, *et al.* Human and murine inhibitory natural killer cell receptors transfer from natural killer cells to target cells [ J ]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101( 48 ): 16873-16878.
- [ 19 ] Vyas YM, Maniar H, Dupont B, *et al.* Cutting edge: Differential segregation of the SRC homology 2-containing protein tyrosine phosphatase-1 within the early NK cell immune synapse distinguishes noncytolytic from cytolytic interaction [ J ]. *J Immunol*, 2002, 168( 7 ): 3150-3154.
- [ 20 ] Standeven LJ, Carlin LM, Borszcz P, *et al.* The actin cytoskeleton controls the efficiency of killer Ig-like receptor accumulation at inhibitory NK Cell immune synapse [ J ]. *J Immunol*, 2004, 173( 9 ): 5617-5625.
- [ 21 ] Fassett MS, Davis DM, Valter MM, *et al.* Signaling at the inhibitory natural killer cell immune synapse regulates lipid raft polarization but not class I MHC clustering [ J ]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98( 25 ): 14547-14552.
- [ 22 ] Sanni TB, Masilamani M, Kabat J, *et al.* Exclusion of lipid rafts and decreased mobility of CD94/NKG2D receptors at the inhibitory NK cell synapse [ J ]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15( 7 ): 3210-3223.
- [ 23 ] Burroughs NJ, Wulfig C. Differential segregation in a cell-cell contact interface: The dynamics of the immunological synapse [ J ]. *Biophys J*, 2002, 83( 4 ): 1784-1796.
- [ 24 ] McCann FE, Vanherberghen B, Eleme K, *et al.* The size of the synaptic cleft and distinct distributions of filamentous actin, ezrin, CD43, CD45, at activating and inhibitory human NK cell immune synapse [ J ]. *J Immunol*, 2003, 170( 6 ): 2862-2870.
- [ 收稿日期 ] 2006-08-13 [ 修回日期 ] 2006-11-16  
[ 本文编辑 ] 韩丹