

[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

Advances in clinical study osteopontin in ovarian cancer

陈慧雁¹综述,杨幼易¹,董建春²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年生生存率<25%。而Ⅰ/Ⅱ期卵巢癌的5年生生存率可达70%~90%。CA125是1981年Bast等^[1]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^[2]。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%^[3]。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均可分泌OPN。人类OPN基因定位于染色体4q13^[4],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 β_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^[5]。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 κB (NF- κB)_{P50}和P65引起的^[6]。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^[7]。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^[8]。

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

[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

胞黏附和迁移,激活了 NF- κ B、GTP 结合蛋白 Ras 和酪氨酸激酶 Src^[6],有利于肿瘤转移;(2)整合素 $\alpha_v\beta_3$ 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 $\alpha_v\beta_3$ 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 $\alpha_v\beta_3$ 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^[9]。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^[10]。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^[11]。

3 OPN 与卵巢癌的诊断

Kim 等^[12]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 μ 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^[13]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^[14]。Ye 等^[15]发现早期卵巢癌患者尿液中的修饰型嗜酸性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^[16]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织,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^[17]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^[13]。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 consistency,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^[18]。

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^[19]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^[20]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 $\alpha_v\beta_3$ 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] Diamants EP, Scorilas A, Fracchioli S, *et al.* Human kalikrein 6 (Hk6): A new potential serum biomarker for diagnosis and prog-

- nosis 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- κ B mediates $\alpha_v\beta_3$ integrin-induced endothelial cell survival [J]. J Cell Biol, 1998, 141(4): 1083-1093.
- [7] Hirama 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