

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.03.021

· 综述 ·

OLFM4 与人消化系统肿瘤相关性的研究进展

Advancement of the relations between OLFM4 and human gastrointestinal cancers

陈润哲¹, 胡蒙¹, 朱丽玲¹, 龚涌灵² (1. 东南大学医学院, 江苏南京 210009; 2. 南京市第一医院肿瘤科, 江苏南京 210006)

[摘要] 人类嗅素蛋白(olfactomedin 4, OLFM4)属于 olfactomedin 相关家族成员,它是一种糖蛋白,正常表达于人的多种器官和组织。OLFM4 在肿瘤组织中的表达具有特异性,它在胃癌、胰腺癌、结肠癌、宫颈癌等肿瘤中高表达。OLFM4 有促进细胞增殖、调节细胞黏附转移、抑制细胞凋亡和免疫防御等多种功能。OLFM4 与消化系统肿瘤的关系成为近年来的研究热点。OLFM4 已被证明为胃癌发生、发展和分化的一个重要的标志物,但其具体调控机制目前仍处于研究中,抑制 OLFM4 基因表达和抗癌药物的联合应用可能成为胃癌的治疗策略。OLFM4 在胰腺癌中的高表达率提示其或许可成为胰腺癌新的标志物,OLFM4 是通过作用于 DNA 合成的 S 期到有丝分裂的 G₂/M 期来促进胰腺癌细胞增殖。OLFM4 基因最早是因为其在结肠癌细胞中的高表达被发现,OLFM4 在结直肠癌的黏附转移中发挥着一定作用。OLFM4 在早期消化系统肿瘤中的敏感性比其他肿瘤标志物高,是否能作为早期诊断消化系统肿瘤的标志物,有待于进一步研究。

[关键词] OLFM4;肿瘤;消化系统

[中图分类号] R735;R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)03-0353-04

人类嗅素蛋白 4(olfactomedin 4, OLFM4)又称 GW112^[1]、hGC-1^[2]及 hOLFID^[3],它属于 olfactomedin 相关蛋白家族。Olfactomedin 家族在大自然中分布广泛,成员总数超过 100 种,可分为 7 个亚族,其共同点是都有一个由 250 个氨基酸构成的 C-末端序列,因此又被称为“olfactomedin 结构域”。Olfactomedin 家族在神经发育、细胞增殖、细胞黏附和周期调节及肿瘤发生、发展中均发挥着非常重要的作用^[3]。OLFM4 是第 5 亚族的一员,它是一种糖基化细胞外基质蛋白^[3],表达于人的胃^[4]、胰腺^[5]、结直肠^[6-7]、骨髓^[1]、乳腺^[6]、肺^[6]、宫颈^[8]及前列腺^[9]等组织。

1 OLFM4 的结构和分布

1.1 结构

OLFM4 基因最初发现于人的结肠炎黏膜隐窝上皮细胞^[10],它位于人类第 13 号染色体 q14.3,含有 5 个外显子,跨度为 23 000 bp,大小在 156 ~ 801 bp,内含子大小在 980 ~ 7 400 bp。OLFM4 基因的转录 mRNA 长度为 2 861 bp,包含一个有 1 530 个核苷酸序列的开放阅读框架,编码 510 个氨基酸^[10]。

OLFM4 是一种分泌性的糖基化细胞外基质蛋白,成熟的蛋白质有 490 个氨基酸和 6 个均衡分布的 N-糖基化序列,单体蛋白相对分子质量约为 64 000,糖基化修饰后相对分子质量降到 54 000。结构分析示 OLFM4 的 N-末端为线圈结构域,C-末端为

olfactomedin 结构域。氨基酸分析示 OLFM4 的 83、85、226、246 和 437 位氨基酸为半胱氨酸残基,这些位置的半胱氨酸形成分子内二硫键,可通过影响 OLFM4 的三级结构而影响其分泌。在人体,任意这 5 个半胱氨酸的位置若发生突变,均会影响到蛋白质的三级结构、聚合和分泌,进而影响 OLFM4 的分泌和(或)结构,从而导致病理变化^[11]。

1.2 体内分布

OLFM4 蛋白在细胞内的定位并不十分明确。Zhang 等^[1]发现它主要分布于线粒体,部分分布于细胞核,而 Liu 等^[11]发现 OLFM4 主要定位于核周细胞质和细胞膜。目前,关于 OLFM4 在胞内的定位有待于进一步确认,但从目前研究来看,它在细胞内分布比较广泛。

[基金项目] 南京市医学重点科技发展基金资助项目(No. ZKX13013);江苏省卫生厅“科教兴卫”医学领军人才与创新团队专项基金资助项目(No. 苏卫科教 2011 字第 15 号)。Project supported by the Major Medical Science and Technology Development Project of Nanjing(No. ZKX13013), and the Project of Scientific Education and Vitalizing Health Service for Leading Talents and Innovation Teams from the Ministry of Health and Welfare of Jiangsu Province (Jiangsu Health Scientific Education No. 2011-15)

[作者简介] 陈润哲(1992-),女,湖北省潜江市人,硕士生,主要从事肿瘤基础与临床研究,E-mail:runjer.chen@gmail.com

[通信作者] 龚涌灵(Gong Yongling, corresponding author),E-mail: gongyongling26@163.com

Olfactomedin 家族在人体的表达具有组织特异性,不同的成员在不同的组织中表达。OLFM4 在人的前列腺、骨髓、小肠、结肠、食管和胃中均呈现高表达^[12]。OLFM4 在消化道细胞中的分布十分广泛^[13];在胃中,OLFM4 主要位于壁细胞或泌酸细胞的细胞质;在小肠,它主要定位在肠壁的肠上皮细胞和隐窝柱状细胞^[14];OLFM4 在人类结肠的基底隐窝上皮细胞也呈现强表达。OLFM4 在肿瘤组织中的表达也具有特异性,它在胃癌^[15]、胰腺癌^[5]、结肠癌^[16]、宫颈癌^[8]等肿瘤中高表达,而在其他肿瘤中则很难被检测到。

2 OLFM4 的功能

OLFM4 具有促进细胞增殖的作用,其机制可能是通过调节细胞周期来实现的。进一步的研究^[5, 17]表明,细胞的类型和组织特异性不同,OLFM4 的促增殖效应也不尽相同。

如其他细胞外基质蛋白一样,OLFM4 亦可与细胞表面蛋白结合,调节细胞黏附。Liu 等^[17]发现,OLFM4 过表达可以改变结肠癌细胞 HT-29 的形状及皮质肌动蛋白的分布,而敲除 OLFM4 基因可以降低细胞间的黏附,有助于细胞转移。

OLFM4 具有抑制细胞凋亡的作用。Zhang 等^[1]在对小鼠淋巴结上皮细胞 SVEC 的研究中发现,OLFM4 能通过抑制线粒体 CytC 的释放从而抑制 Caspase-3 与 Caspase-9 的活化,进而抑制 H₂O₂ 和 TNF α 诱导的细胞凋亡。

OLFM4 在免疫防御方面发挥着某些重要的作用。Liu 等^[12]用 OLFM4 基因敲除小鼠的研究证实,OLFM4 能作用于 NOD1 和 NOD2 调节 NF- κ B 的活化,使其产生细胞因子和趋化因子,进而抑制宿主对幽门螺杆菌引起的胃炎发挥的免疫反应。

3 OLFM4 与消化系统肿瘤

3.1 OLFM4 与胃癌

在消化系统肿瘤中,OLFM4 在胃癌中的作用成为近年的研究热点。

多项实验均证实,OLFM4 与胃癌的发生、发展紧密相关。Zhang 等^[10]的研究表明,OLFM4 基因的转录水平与胃癌组织浸润深度、转移程度及分化程度有密切的关系。李霞等^[18]通过免疫组化的方法对 25 例胃癌组织进行研究发现,有淋巴结转移组 OLFM4 基因的 mRNA 表达水平明显高于无淋巴结转移组,表明 OLFM4 基因表达上调的胃癌具有更强的侵袭力,更易于转移,因此,OLFM4 可作为评估胃

癌患者病情的一项指标。Que 等^[19]利用免疫组化研究 OLFM4 基因在人胃癌组织中的表达,同时通过 ELISA 的方法检测胃癌患者血清中 OLFM4 蛋白的水平。通过免疫染色的方法发现,OLFM4 在 I/II 期胃癌的表达率明显高于 IV/IV 期胃癌。手术前胃癌患者血清 OLFM4 的浓度远远高于对照组。而在 I 期胃癌的患者中,血清 OLFM4 的敏感性(25%)远比 CA19-9(5%)和 CEA(3%)高。基于以上结果,OLFM4 已被证明为胃癌发生、发展和分化的一个重要的标志物。

OLFM4 与胃癌的具体调控机制,目前仍处于研究中。Kim 等^[15]通过对胃癌细胞株 AGS、SNU5、SNU216、SNU620、SNU638 和 SNU719 的研究发现,OLFM4(GW112)基因的表达是受 NF- κ B(p53)表达调控的,而 NF- κ B 可以促进肿瘤细胞的生长与黏附,因此 OLFM4 具有抗凋亡的性质。至于 OLFM4 为何在胃肠道中高表达,其表达是如何受到调控的,目前仍不明晰,该研究认为可能与 NF- κ B 有一定的关系。

在对胃癌治疗的研究中,有实验^[15, 20]表明,OLFM4 的敲除能促进 H₂O₂ 和 TNF α 诱导胃癌细胞 GAS、SGC-7901 和 MKN-45 的凋亡,使胃癌细胞对 H₂O₂ 和 TNF α 的治疗变得更加敏感。因此,抑制 OLFM4 基因表达和抗癌药物的联合应用可能成为胃癌的治疗策略。

3.2 OLFM4 与胰腺癌

胰腺癌是目前最具有挑战性的肿瘤,它的高度恶性及对放化疗的不敏感性使它成为当前的研究热点。胰腺癌的早期发现和诊断方面的研究尚无明显进展^[21]。OLFM4 在胰腺癌中的高表达率提示,OLFM4 或许可成为胰腺癌新的标志物。

OLFM4 在胰腺癌中高表达已被多项实验所证实。Cuoghi 等^[22]用蛋白组学的方法对胰腺囊性肿瘤进行研究,发现 OLFM4 在黏液性肿瘤和导管内乳头黏液瘤中均有明显的高表达。在另一项实验中,Lukic 等^[23]通过定量蛋白组学对 4 例胰腺癌组织与 3 例慢性胰腺炎组织进行分析发现,与胰腺炎组织相比,OLFM4 在 4 例胰腺癌组织中均呈现出过度表达。Yan 等^[24]从胰腺癌患者和正常供者的外周血单核细胞样本中提取 mRNA,测定 OLFM4 基因的表达。实验结果表明,OLFM4 基因胰腺癌患者的表达率是正常患者的 4.46 倍,血样本中 OLFM4 及其产物或许可以成为筛选胰腺癌的工具,也可作为胰腺癌的标志物。

OLFM4 在胰腺癌细胞增殖中发挥着相当大的作用。将胰腺癌细胞 PANC-1 转入 siRNA 对抗

OLFM4,转导 siRNA 的胰腺癌细胞的增殖明显减少,并有时间依赖性。细胞数目在 G₁ 期减少,S 期增多,这表明细胞周期在 S 期阻滞。通过显微拍摄证实导入 siRNA 的 S 期胰腺癌细胞数目远大于导入乱序 siRNA 的对照组细胞的数目,再次证实胰腺癌细胞生长被阻滞在 S 期。这表明 OLFM4 是通过作用于 DNA 合成的 S 期到有丝分裂的 G₂/M 期来促进胰腺癌细胞增殖^[5]。

3.3 OLFM4 与结肠肿瘤

OLFM4 基因最早是因为其在结肠癌细胞中的高表达被发现,关于 OLFM 与结肠癌的关系目前也进行了较多的研究。大量实验数据表明,OLFM4 也可作为结肠肿瘤的标记物。

OLFM4 与结肠肿瘤的发生、发展密切相关。Koshida 等^[6]发现,OLFM4 mRNA 在结肠癌中的表达与正常结肠组织相比上升了 90%。Vander 等^[25]用原位杂交方法证实 OLFM4 在人结肠癌中表达水平更高,认为 OLFM4 具有肿瘤干细胞的特点,可能成为研究人结肠干细胞生物学的一种非常有用的分子。在对结肠癌细胞株 HCT-116 和 DLD-1 的研究中,Iliou 等^[26]发现 OLFM4 基因表达的上调,OLFM4 是 β -catenin 的靶基因。而 Wnt/ β -catenin 通路的激活与 CD44 有关,CD44 是结肠癌干细胞标记物,这也间接说明结肠癌的发生、发展与 OLFM4 密切相关。同样,Besson 等^[27]用定量蛋白组学的方法分析结肠癌发展的各个阶段,实验结果表明 OLFM4 在结肠癌的早期呈现过表达,实验也证实 OLFM4 是受 Ras-NF- κ B2 通路调控并激活的,该通路是结肠癌发生、发展中的主要通路。

OLFM4 在结肠癌的黏附转移中发挥着一定作用。Liu 等^[11]发现 OLFM4 过度表达的 HT-29 结肠癌细胞的黏附和迁移力下降。在随后的研究中发现,OLFM4 在分化程度越高的结肠腺癌组织中表达越高。而在低分化的结肠癌中,OLFM4 低表达甚至未表达。同时,在晚期淋巴结转移阶段、转移和生存期短患者中 OLFM4 也呈现出低表达。进一步实验证实,OLFM4 的过度表达会改变 HT-29 细胞的形态和肌动蛋白的分布^[17]。

3.4 OLFM4 与其他消化系统肿瘤

OLFM4 可表达于正常食管中^[28],但其是否会在食管癌中过表达未有实验证实。OLFM4 与肝癌的相关性鲜有报道,仅有一项临床研究表明,OLFM4 的过度表达与结肠癌患者的肝转移有一定相关性,OLFM4 的过度表达或许在结肠癌患者肝转移中发挥重要的作用,但具体机制不明^[29]。

4 结 语

OLFM4 在恶性肿瘤发生、发展及转移中起着重要的作用,由于在多种消化系统肿瘤中呈现高表达,因此它与消化系统肿瘤的相关性激起了科研工作者的兴趣,有望成为消化系统肿瘤一个有价值的标志物或潜在的治疗靶点。但是,基于目前的研究,OLFM4 仅与部分消化系统肿瘤密切相关,它是否能成为消化系统肿瘤特异性的标志物还有待于进一步研究。OLFM4 是如何受到调控的,为何在消化系统肿瘤中高表达,具体机制目前仍不清楚。OLFM4 在早期消化系统肿瘤中的敏感性比其他肿瘤标志物高,是否能作为早期诊断消化系统肿瘤的标志无,也有待于进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] Zhang X, Huang Q, Yang Z, et al. GW112, a novel antiapoptotic protein that promotes tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(7): 2474-2481.
- [2] Seko N, Oue N, Noguchi T, et al. Olfactomedin 4 (GW112, hGC-1) is an independent prognostic marker for survival in patients with colorectal cancer [J]. *Exp Ther Med*, 2010, 1(1): 73-78.
- [3] Kulkarni NH, Karavanich CA, Atchley WR, et al. Characterization and differential expression of a human gene family of olfactomedin-related proteins [J]. *Genet Res*, 2000, 76(1): 41-50.
- [4] Quante M, Wang TC. Stem cells in gastroenterology and hepatology [J]. *Nat Rev Gastro Hepat*, 2009, 6(12): 724-737.
- [5] Kobayashi D, Koshida S, Moriai R, et al. Olfactomedin 4 promotes S-phase transition in proliferation of pancreatic cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(3): 334-340.
- [6] Koshida S, Kobayashi D, Moriai R, et al. Specific overexpression of OLFM4 (GW112/hGC-1) mRNA in colon, breast and lung cancer tissues detected using quantitative analysis [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(3): 315-320.
- [7] Sentani K, Sakamoto N, Shimamoto F, et al. Expression of olfactomedin 4 and claudin-18 in serrated neoplasia of the colorectum: A characteristic pattern is associated with sessile serrated lesion [J]. *Histopathology*, 2013, 62(7): 1018-1027.
- [8] Yu L, He M, Yang Z, et al. Olfactomedin 4 is a marker for progression of cervical neoplasia [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2011, 21(2): 367-372.
- [9] Li H, Rodriguez-Canales J, Liu W, et al. Deletion of the olfactomedin 4 gene is associated with progression of human prostate cancer [J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(4): 1329-1338.
- [10] Zhang J, Liu WL, Tang DC, et al. Identification and characterization of a novel member of olfactomedin-related protein family, hGC-1, expressed during myeloid lineage development [J]. *Gene*, 2002, 283(1/2): 83-93.
- [11] Liu W, Chen L, Zhu J, et al. The glycoprotein hGC-1 binds to

- cadherin and lectins [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(10): 1785-1797.
- [12] Liu W, Yan M, Liu Y, et al. Olfactomedin 4 inhibits cathepsin C-mediated protease activities, thereby modulating neutrophil killing of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in mice [J]. *J Immunol*, 2012, 189(5): 2460-2467.
- [13] Grover PK, Hardingham JE, Cummins AG. Stem cell marker olfactomedin 4: Critical appraisal of its characteristics and role in tumorigenesis [J]. *Cancer Metast Rev*, 2010, 29(4): 761-775.
- [14] Barker N. Adult intestinal stem cells: Critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration [J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2014, 15(1): 19-33.
- [15] Kim KK, Park KS, Song SB, et al. Up regulation of GW112 gene by NF kappaB promotes an antiapoptotic property in gastric cancer cells [J]. *Mol Carcinog*, 2010, 49(3): 259-270.
- [16] Wisniewski JR, Ostasiewicz P, Dus K, et al. Extensive quantitative remodeling of the proteome between normal colon tissue and adenocarcinoma [J]. *Mol Syst Biol*, 2012, 8(4): 611-619.
- [17] Liu W, Liu Y, Zhu J, et al. Reduced hGC-1 protein expression is associated with malignant progression of colon carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(4): 1041-1049.
- [18] 李霞, 李瑜元, 胡建国, 等. 抗凋亡基因 GW112 在胃癌组织中的表达及其临床意义 [J]. *广州医学院学报*, 2007, 35(1): 1-4.
- [19] Oue N, Sentani K, Noguchi T, et al. Serum olfactomedin 4 (GW112, hGC-1) in combination with Reg IV is a highly sensitive biomarker for gastric cancer patients [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(10): 2383-2392.
- [20] Liu RH, Yang MH, Xiang H, et al. Depletion of OLFM4 gene inhibits cell growth and increases sensitization to hydrogen peroxide and tumor necrosis factor-alpha induced-apoptosis in gastric cancer cells [J]. *J Biomed Sci*, 2012, 19(1): 38-45.
- [21] Wormann SM, Algul H. Risk factors and therapeutic targets in pancreatic cancer [J]. *Front Oncol*, 2013, 3(2): 282-289.
- [22] Cuoghi A, Farina A, ZGraggen K, et al. Role of proteomics to differentiate between benign and potentially malignant pancreatic cysts [J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(5): 2664-2470.
- [23] Lukic N, Visentin R, Delhay M, et al. An integrated approach for comparative proteomic analysis of human bile reveals overexpressed cancer-associated proteins in malignant biliary stenosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1844(5): 1026-1033.
- [24] Yan H, Lu D, Xu L, et al. Increased expression level of Olfactomedin4 in peripheral blood mononuclear cells of pancreatic adenocarcinoma patients [J]. *Hepato-Gastroenterol*, 2011, 58(109): 1354-1359.
- [25] van der Flier LG, Haegbarth A, Stange DE, et al. OLFM4 is a robust marker for stem cells in human intestine and marks a subset of colorectal cancer cells [J]. *Gastroenterol*, 2009, 137(1): 15-17.
- [26] Iliou MS, da Silva-Diz V, Carmona FJ, et al. Impaired DICER1 function promotes stemness and metastasis in colon cancer [J]. *Oncogene*, 2013[Epub ahead of print].
- [27] Besson D, Pavageau AH, Valo I, et al. A quantitative proteomic approach of the different stages of colorectal cancer establishes OLFM4 as a new nonmetastatic tumor marker [J]. *Mol Cell proteomics*, 2011, 10(1): 1-14.
- [28] Liu W, Zhu J, Cao L, Rodgers GP. Expression of hGC-1 is correlated with differentiation of gastric carcinoma [J]. *Histopathology*, 2007, 51(2): 157-165.
- [29] Huang MY, Wang HM, Chang HJ, et al. Overexpression of S100B, TM4SF4, and OLFM4 genes is correlated with liver metastasis in Taiwanese colorectal cancer patients [J]. *DNA Cell Biol*, 2012, 31(1): 43-49.

[收稿日期] 2013 - 12 - 10 [修回日期] 2014 - 04 - 06

[本文编辑] 韩丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

化学元素和核素符号规范书写的要求

化学符号虽然是化学专业的学术交流语言,但在生物医学领域也有很广泛的使用。化学符号的书写有其特殊的规律和要求,生物医学论文中必须重视化学符号书写的规范化。根据 GB3102.8-93《物理化学和分子物理学的量和单位》的规定,把化学元素和核素符号书写的规范要求介绍如下:

- (1) 元素或核素的单字母符号均用正体大写,双字母符号首字母正体大写,第二个字母用正体小写。
- (2) 核素的核子数(质子数)应标注在元素符号的左上角,例如: ^{60}Co , ^{32}P , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{125}I 等;过去习惯把核子数标注在元素符号右上角的写法是错误的,例如: N^{14} , Co^{60} 等。
- (3) 离子价态的字符应标注在元素符号的右上角,例如: H^+ , Cl^- , O^{2-} , Mg^{2+} , Al^{3+} , PO_4^{3-} 等,不应写成 O^{-2} , $\text{O}^{- -}$, Mg^{+2} , $\text{Mg}^{+ +}$, $\text{Al}^{+ + +}$, PO_4^{-3} 等。
- (4) 激发态的字符(电子激发态用 *; 核子激发态用正体 m, 也可用 *)标注在元素或核素符号的右上角,例如: $^{110}\text{Ag}^{\text{m}}$, $^{110}\text{Ag}^*$, He^* , NO^* 等。
- (5) 分子中核素的原子数标注在核素符号右下角,例如: H_2 , FeSO_4 等。
- (6) 质子数(原子序数)标注在元素符号左下角,例如: $_{82}\text{Pb}$, $_{26}\text{Fe}$ 等。
- (7) 对于形状相似的元素符号、化合物的化学式符号,书写时应注意区分,如:Co(钴)—CO(一氧化碳),No(锗)—NO(一氧化氮),Ba(钡)—Ra(镭),Nb(铌)—Nd(钕)—Np(镎),HF(氟化氢)—Hf(铪)等。