

SPOCK1 的生物学研究进展

毕丹丹 成秉林 葛瑞胜 张淑君

摘 要 细胞外基质蛋白多糖 SPOCK1 (sparc/osteonectin, cwcv, and kazal - like domains proteoglycan 1, SPOCK1) 是新发现的钙离子结合蛋白多糖家族的成员之一。早期因其参与调控中枢神经系统而被人们所认识。近年来,因其具有促进肿瘤的形成、促进侵袭和转移、抑制凋亡并调节细胞外基质重构等多种生物学功能而备受关注与研究。然而,此较新颖的基因在肿瘤中的研究仍然有限,如果将 SPOCK1 应用于肿瘤的诊断及预后的评估中,还需对其促肿瘤的生物学作用有更深入的了解。本文就其生物化学、促肿瘤的生物学功能等方面进行综述。

关键词 SPOCK1 侵袭 转移 凋亡

中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.04.045

细胞外基质是存在于组织和器官的非细胞成分,细胞外基质的主要分子成分是蛋白多糖和纤维蛋白,肽酶分解细胞外基质高分子,使其持续地处于动态重塑状态,从而保持组织的分化及稳态。肽酶的异常改变及细胞外基质分解与合成之间平衡的破坏,均能够使细胞外基质的动态平衡明显发生改变,从而导致肿瘤的形成^[1]。SPOCK1 属于细胞外基质的蛋白多糖,对细胞外基质的合成和积累起到了重要的作用^[2]。最近的研究表明 SPOCK1 不仅参与调节中枢神经系统、子宫及冠状动脉的生物学过程,而且在多种肿瘤中表达上调并促进肿瘤的形成、促进侵袭和转移,此外尚抑制凋亡并调节细胞外基质的重构。

一、SPOCK1 的生物化学

SPOCK1 蛋白首次发现于人类睾丸中,最初被命名为 testican - 1。编码此蛋白的 SPOCK1 基因定位于人染色体 5q31 区域,含硫酸软骨素链及硫酸乙酰肝素链,其 mRNA 长度为 5kb,包含 12 个外显子,开放阅读框架长 1.3kb,3'端非编码区长达 3.3kb,约为其他基因非编码区的 4 倍,并编码 SPOCK1 蛋白的 439 个氨基酸残基。SPOCK1 鼠的同源基因为 Spock1,含有 6 个功能区域,部分区域能抑制蛋白酶活性^[3]。研究表明其第 3 号外显子可以被选择性地分解,从而发挥特定的靶向功能。在幼鼠神经元迁移

及突触形成时期,Spock1 表达上调;而成鼠中,Spock1 主要在海马 CA3 区域的椎体神经元突触中表达^[4]。

SPOCK1 编码细胞外基质蛋白多糖,属于新发现的钙离子结合蛋白多糖家族成员之一,此家族的共同特点是有相似的 N 端、C 端以及含有卵白素样结构的区域,参与细胞的增殖、黏附及转移。此家族除了 SPOCK1 之外还包括半胱氨酸的酸性蛋白 (secreted protien acidic and rich in cysteine, SPARC)、testican - 2 及 testican - 3。其中 SPARC 在肿瘤中已有大量的研究,越来越多的证据表明 SPARC 在肿瘤的增殖、细胞周期、凋亡、黏附及细胞基质间的相互作用中起重要的调节作用^[5]。SPOCK1 与 SPARC 在结构上有极高的相似性,早期研究发现 SPOCK1 在许多组织中表达上调,包括脑组织、软骨、血管内皮、淋巴细胞以及肌肉神经接点,近来越来越多的研究发现 SPOCK1 还广泛参与肿瘤的发生与发展。

二、SPOCK1 与非肿瘤疾病相关性

早期研究表明 SPOCK1 可在细胞 - 细胞和细胞 - 基质间发挥作用,主要表达于中枢神经系统及富有半胱氨酸的蛋白多糖的脑区域,参与调控黑质多巴胺神经元的形成、增生及维持其活性,并影响中脑酪氨酸羟化酶的活化。SPOCK1 不仅抑制神经肿瘤细胞的黏附,尚能参与脑损伤时轴突的再生^[6]。SPOCK1 位于 5q31 区域,研究证明此区域基因的缺失会致不同程度的智力障碍,临床特征包括身材矮小、先天性心脏病及生育功能缺失等。而 Sandra 等^[7]的研究却发现,Spock1 基因缺失的鼠没有形态学和行为的异常,并且有正常的生育功能和寿命,但是 testican - 2 及 testican - 3 的表达却有相应的提高,

基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目(面上项目)(H2015094)

作者单位:150000 哈尔滨医科大学第四临床医学院(毕丹丹、葛瑞胜、张淑君);哈尔滨医科大学第一临床医学院(成秉林)

通讯作者:张淑君,副教授,硕士生导师,电子信箱:Zhangshu-jun1974@126.com

由此他们认为或许脑部蛋白多糖成分间存在一定的互补性。

子宫内膜感受性对于哺乳动物胚胎的着床起到重要的调节作用,研究发现 SPOCK1 对于子宫内膜感受性有一定的作用^[8]。与此同时 Liu 等^[9]的研究还发现 SPOCK1 通过抑制基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP) - 2 参与月经初潮年龄的调节。研究表明 SPOCK1 的单核苷酸多态性和低密度脂蛋白 - 胆固醇通路以及冠状动脉疾病密切相关。Chen 等^[10]的研究发现, SPOCK1 或许能作为冠心病危险因子之一,通过低密度脂蛋白 - 胆固醇通路,参与冠心病的发生。Shilpa 等^[11]在研究硝酸甘油对冠状动脉缺血性疾病中发现, SPOCK1 蛋白的部分区域含半胱氨酸较丰富,此区域又可以被硝酸甘油氧化,因此硝酸甘油能明显的下调 SPOCK1 的表达。

SPOCK1 除了参与调节中枢神经系统、子宫及冠状动脉多种生物学过程外,还竞争性抑制溶酶体半胱氨酸蛋白酶 cathepsin L,并能抑制 MMP - 2 的活性,在铜绿假单胞菌感染的角膜组织中通过调节 MMP - 2 的活性促进损伤的修复。除此之外, SPOCK1 还作为肌腱膜纤维肉瘤癌基因 B 型(v - maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family protein B, MafB) 基因的靶向蛋白,参与 MafB 在单核 - 吞噬细胞的分化过程^[12]。由此可见, SPOCK1 在机体的多项生物学过程中发挥重要的调节作用。

三、SPOCK1 与肿瘤的相关性

SPOCK1 除了具有多种非肿瘤相关性生物学作用外,比较令人感兴趣的一个新领域是 SPOCK1 还广泛参与肿瘤的发生、发展。其在多种肿瘤中表达上调,促进肿瘤的形成、促进肿瘤细胞的侵袭和转移、抑制肿瘤的凋亡并能调节细胞外基质的重构。

1. SPOCK1 在肿瘤中的表达:2009 年 Justyna 等^[13]的研究发现 SPOCK1 在胃肠道神经内分泌肿瘤中表达量有所提高,此后, Nilsson 在回肠良性肿瘤中也发现 SPOCK1 的表达有所上调^[14]。近期的研究发现, SPOCK1 不仅在胆囊癌、肺癌、肝癌、胰腺癌及食管鳞状细胞癌中表达都有所提高,而且其表达程度都同肿瘤的组织学分级、淋巴结转移及患者的短期存活时间明显相关。特别要指出的是,统计学分析表明 SPOCK1 不仅可以作为胆囊癌患者短期存活时间的一个诊断指标,也能对肝癌和胰腺癌预后的判断起到一定的参考价值^[15-19]。研究者相继发现 SPOCK1 在前列腺癌中表达量较高,并且其表达程度同 FBLN1

编码的基膜成分 fibulin 1 呈负相关^[20]。随后, Wolfgang 等^[21]研究证明成红细胞病毒 E26 致癌物(erythroblastosis virus E26 oncogen, ERG)高表达的前列腺癌中, SPOCK1 表达明显提高,与此同时 FBLN1 的表达相应降低。研究者大胆认为 SPOCK1 或许作为 ERG 的靶向基因而发挥生物学作用。

2. SPOCK1 促进肿瘤细胞的侵袭及转移:体外研究表明 SPOCK1 在胶质母细胞瘤及肝癌的侵袭中都发挥一定的作用,肝癌的体内研究还发现其尚促进肿瘤的淋巴结转移^[22]。此外,研究发现在肝癌组织边缘区, SPOCK1 表达量较高,这不仅说明 SPOCK1 的表达量同肿瘤细胞的活力和极性密切相关,而且为 SPOCK1 能促进肿瘤的转移提供强有力的证据^[17]。

近来的研究表明上皮间质转化(epithelial - mesenchymal transition, EMT)在肿瘤的侵袭和转移中发挥至关重要的作用,而多项研究发现, SPOCK1 正是通过 EMT 而促进胆囊癌、食管鳞状细胞癌及肺癌的侵袭和转移^[15,16,18]。其中, Miao 等在肺癌的研究中首次发现 SPOCK1 是 TGF - β 的下游基因,因 TGF - β 在恶性肿瘤中发挥重要的作用,并调节 EMT 的发生,所以研究者认为 TGF - β /SPOCK1 轴促进肺癌 EMT 的形成,并导致其肿瘤细胞的侵袭和转移。此外, SPOCK1 在胃癌的研究中发现, SPOCK1 通过调节 EMT 信号通路,使得 HER 2 阳性的胃癌产生耐药的作用,值得关注的是这一项研究的发现,或许可以提高胃癌化疗的有效性^[23]。

3. SPOCK1 促进肿瘤形成并抑制凋亡:体内外的研究表明, SPOCK1 在胆囊癌和肝癌的形成中起到一定的促进作用,并且沉默 SPOCK1 基因能明显抑制肺癌细胞的生长及细胞集落的形成^[15-17]。

沉默 SPOCK1 基因的胆囊癌细胞,镜下的显微结构呈现细胞凋亡的形态,细胞萎缩、细胞核固缩及核碎裂,而阴性对照组的细胞却圆滑而均匀一致。研究者还发现,此凋亡很可能是通过 PI₃K/Akt 通路而发挥作用^[15]。PI₃K/Akt 是经典的细胞通路,它的激活可以促进细胞生长、EMT 的形成以及 Bax 介导的凋亡信号通路^[24]。所以,研究者认为沉默 SPOCK1 基因抑制肿瘤细胞凋亡、侵袭、转移及 EMT 的发生这一系列的作用,都是 PI₃K/Akt 被抑制的结果^[15]。而在肝癌的研究中发现 chromodomain helicase/ATPase DNA binding protein 1 - like gene (CHD1L)与 SPOCK1 的启动子区域相结合,调节 SPOCK1 的转录

并通过 AKT - Cyt C - caspase 9 - caspase 3 信号通路抑制肝癌细胞凋亡,即激活 AKT 信号通路、阻断细胞色素 C 的释放及激活 caspase - 9 和 caspase - 3^[17]。

4. SPOCK1 调节细胞外基质的重构:细胞的侵袭作用会导致基膜的细胞外基质蛋白发生退化,其中 MMP - 2 及 MMP - 9 是此过程的主要成分。如前面提到的 SPOCK1 参与损伤模型中 MMP - 2 活性的调节,从而促进损伤的愈合。Li 等^[17]的研究表明,SPOCK1 过表达的肝癌细胞分泌更多 MMP - 9,而 MMP - 2 却没有明显的改变,此结果或许与 SPOCK1 抑制 MMP - 2 的活性有关。

Helene 等^[19]的研究中证明 SPOCK1 作为音猬因子(Sonic Hedgehog, SHH)依赖的基质因子,参与胰腺癌的发生、发展。音猬因子起源于上皮细胞,作为调节基质形成的重要因子,反过来又起到支持上皮细胞的作用。刺猬因子是重要的信号转导途径,而音猬因子是刺猬因子信号转导途径中研究最透彻的配体。音猬因子作为重要的形态发生素,在调节脊椎动物中起关键作用,如它决定四肢及脑脊髓正中线的形成,音猬因子还控制成年体细胞的分裂,更重要的是,它的失控将导致癌症的形成。所以值得思考的是,SPOCK1 是否是作为 SHH 通路中的一员参与胰腺癌的发生、发展。

四、展 望

因为 SPOCK1 属于钙离子结合蛋白多糖家族,SPOCK1 的生物学作用也许受 SPOCK1 分解的多糖片段影响。越来越多的证据表明,多糖片段能特异性地结合生长因子、趋化因子和基质结构。肿瘤细胞吸收这些多糖片段获得更大的生长优势,反过来又对组织有侵袭作用。基膜聚糖的多糖片段保护成纤维细胞生长因子 2 免于蛋白质的降解,并且加强其血管生成作用。除了多糖的稳定成分外,多糖片段的生化改变,如糖基化及解聚,也影响肿瘤的发生、发展,已有研究发现乙酰肝素酶诱导的解聚作用促进基膜聚糖释放成纤维细胞生长因子 2,并促进血管的生成。SPOCK1 或许也有基膜聚糖的这一功能,然而,SPOCK1 是否通过联合其他分子而发挥生物学功能还有待进一步的研究。

体内外的实验结果表明,SPOCK1 促进肿瘤的形成、促进侵袭和转移、抑制肿瘤细胞凋亡并能调节细胞外基质的重构。SPOCK1 作为分泌型蛋白,体外检出率较敏感。SPOCK1 或许可以作为肿瘤的早期诊断因子提高化疗敏感度,并能对预后进行早期评估。

参考文献

- 1 Kaz AM, Luo Y, Dzieciatkowski, *et al.* Aberrantly methylated PKP1 in the progression of Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma [J]. *Gene Chrom Cancer*, 2012, 51(4):384 - 393
- 2 Bradshaw AD. Diverse biological functions of the SPARC family of proteins[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(3):480 - 488
- 3 BaSalamah MA, Marr HS, Duncan AW, *et al.* Testican in human blood[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 283(5):1083 - 1090
- 4 Bonnet F, Périn JP, Charbonnier F, *et al.* Structure and cellular distribution of mouse brain testican. Association with the postsynaptic area of hippocampus pyramidal cells[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(8):4373 - 4380
- 5 Chen L, Chan TH, Yuan YF, *et al.* CHD1L promotes hepatocellular carcinoma progression and metastasis in mice and is associated with these processes in human patients[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(4):1178 - 1191
- 6 Iseki K, Hagino S, Zhang Y, *et al.* Altered expression pattern of testican - 1 mRNA after brain injury[J]. *Biomed Res*, 2011, 32(6):373 - 378
- 7 Röhl S, Seul J, Paulsson M, *et al.* Testican - 1 is dispensable for mouse development[J]. *Matrix Biol*, 2006, 25(6):373 - 481
- 8 Zhang L, An XP, Liu XR, *et al.* Characterization of the transcriptional complexity of the receptive and pre - receptive endometria of dairy goats[J]. *Sci Rep*, 2015, 5:14244
- 9 Liu YZ, Guo YF, Wang L, *et al.* Genome - wide association analyses identify SPOCK as a key novel gene underlying age at menarche[J]. *PLoS Genet*, 2009, 5(3):e1000420
- 10 Chen F, Zhao X, Peng J, *et al.* Integrated microRNA - mRNA analysis of coronary artery disease[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(8):5505 - 5511
- 11 Krishnatry AS, Brazeau DA, Fung HL. Broad regulation of matrix and adhesion molecules in THP - 1 human macrophages by nitroglycerin. nitric oxide[J]. 2010, 22(1):11 - 17
- 12 Zhang Y, Chen Q, Ross AC. Retinoic acid and tumor necrosis factor - α induced monocytic cell gene expression is regulated in part by induction of transcription factor MafB[J]. *Exp Cell Res*, 2012, 318(18):2407 - 2416
- 13 Leja J, Essaghiri A, Essand M, *et al.* Novel markers for enterochromaffin cells and gastrointestinal neuroendocrine carcinomas[J]. *Mod Pathol*, 2009, 22(2):261 - 272
- 14 Nilsson O. Profiling of ileal carcinoids [J]. *Neuroendocrinology*, 2013, 97(1):7 - 18
- 15 Shu YJ, Weng H, Ye YY, *et al.* SPOCK1 as a potential cancer prognostic marker promotes the proliferation and metastasis of gallbladder cancer cells by activating the PI₃K/AKT pathway[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14(1):12
- 16 Miao L, Wang Y, Xia H, *et al.* SPOCK1 is a novel transforming growth factor - β target gene that regulates lung cancer cell epithelial - mesenchymal transition[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 440(4):792 - 797

(下转第 186 页)

- 2 Swensen SJ, Viggiano RW, Midthun DE, *et al.* Lung nodule enhancement at CT: Multicenter Study[J]. *Radiology*, 2000, 214(1): 73 – 80
- 3 赵亚春, 闫崇善, 刘富才. 典型孤立性肺结节 100 例病理临床分析[J]. *肿瘤研究与临床*, 2012, 24(3): 197 – 199
- 4 Shiraishi J, Katsuragawa S, Ikezoe J, *et al.* Development of a digital image database for chest radiographs with and without a lung nodule receiver operating characteristic analysis of radiologists' detection of pulmonary nodules[J]. *Am J Roentgenol*, 2000, 174(1): 71 – 74
- 5 罗清, 张国华. 数字化双能量减影技术在胸部肺结节及结节内钙化诊断中的应用价值[J]. *实用放射学杂志*, 2006, 22(1): 30 – 32
- 6 程勇, 张雪林, 陈卫国. 等. 不同分辨率影像诊断显示器的选择对孤立性肺结节识读影响的初步研究[J]. *医学影像学杂志*, 2008, 18(5): 481 – 485
- 7 Ren L, Zhang J, Thongphiew D, *et al.* A novel digital tomosynthesis (DTS) reconstruction method using a deformation field map [J]. *Medical physics*, 2008, 35:3110
- 8 Dobbins III JT, McAdams HP, Song JW. *et al.* Digital tomosynthesis of the chest for lung nodule detection: interim sensitivity results from an ongoing NIH – sponsored trial[J]. *Med Physics*, 2008, 35:2554
- 9 杨德松, 李运, 刘军. 等. 孤立性肺结节直径大小与临床及病理关系的初步研究[J]. *中国肺癌杂志*, 2010, 13(6): 607 – 611
- 10 MacMahon H, Austin JH, Gamsu G. *et al.* Guidelines for management of small Pulmonary nodules detected on CT Scans: A Statement from the Fleischner Society[J]. *Radiology*, 2005, 237(2): 395 – 400
- 11 Aoki T, Nakata H, Watanabe H. *et al.* Evolution of peripheral lung adenocarcinomas CT findings correlated with histology and tumor doubling time[J]. *Am J Roentgenol*, 2000, 174(3): 763 – 768
- 12 李惠民, 肖湘生, 刘士远. 螺旋 CT 靶扫描对肺部小结节的诊断价值[J]. *临床放射学杂志*, 2001, 20(6): 424 – 427
- 13 Rapp – Bernhardt U, Weite T, Doehring W, *et al.* Diagnostic potential of virtual bronchoscopy: advantages in comparison with axial CT slices, MPR and mIP? [J]. *Eur Radiol*, 2000, 10(6): 981 – 988
- 14 蒋南川, 韩萍, 周承凯. 等. 多层螺旋 CT 多平面重组对孤立性肺结节征象检出的价值 [J]. *放射学实践*, 2007, 22(12): 1289 – 1292
- 15 陈旺强, 龚洪翰, 程建敏. 等. CT 动态增强与三维血管重建对孤立性肺结节的定性诊断价值[J]. *实用放射学杂志*, 2008, 24(5): 614 – 616
- 16 Zhang M, Kono M. Solitary pulmonary nodules: evaluation of blood flow patterns with dynamic CT [J]. *Radiology*, 1997, 205(2): 471 – 478
- 17 Gould MK, Maclean CC, Kuschner WG. *et al.* Accuracy of positron emission tomography for diagnosis of pulmonary nodules and mass lesions[J]. *JAMA*, 2001, 285(7): 914 – 924
- 18 Sim YT, Goh YG, Dempsey MF, *et al.* PET – CT evaluation of solitary pulmonary nodules: correlation with maximum standardized uptake value and pathology[J]. *Lung*, 2013, 4:1 – 8
- 19 刘士远, 肖湘生. 孤立性肺结节的处理策略[J]. *中华放射学杂志*, 2005, 39(1): 6 – 8
- 20 张敏鸣, 邹煜, 商德胜. 等. 孤立性肺结节动态增强 MRI 的定量研究[J]. *中华放射学杂志*, 2002, 36(6): 592 – 597
- 21 Mori T, Nomori H, Ikeda K, *et al.* Diffusion – weighted magnetic resonance imaging for diagnosing malignant pulmonary nodules/masses: comparison with positron emission tomography[J]. *J Thorac Oncol*, 2008, 3(4): 358 – 364
- 22 Menezes RJ, Roberts HC, Paul NS, *et al.* Lung cancer screening using low – dose computed tomography in at – risk individuals: the Toronto experience[J]. *Lung Cancer*, 2010, 67(2): 177 – 183
- 23 郭兴, 丁伟, 秦慧娟. 双能 CT 虚拟平扫鉴别良恶性孤立肺结节的临床应用价值[J]. *中华放射学杂志*, 2011, 45(9): 846 – 849
- 24 林晓珠, 沈云, 陈克敏. CT 能谱成像的基本原理与临床应用研究进展[J]. *中华放射学杂志*, 2011, 45(8): 798 – 800

(收稿日期:2014 – 10 – 13)

(修回日期:2014 – 10 – 21)

(上接第 182 页)

- 17 Li Y, Chen L, Chan TH, *et al.* SPOCK1 is regulated by CHD1L and blocks apoptosis and promotes HCC cell invasiveness and metastasis in mice[J]. *Gastroenterology*, 2013, 144(1):179 – 191
- 18 Song X, Han P, Liu J, *et al.* Up – regulation of SPOCK1 induces epithelial – mesenchymal transition and promotes migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Mol Histol*, 2015, 46(4 – 5):347 – 356
- 19 Damhofer H, Medema JP, Veenstra VL, *et al.* Assessment of the stromal contribution to Sonic Hedgehog – dependent pancreatic adenocarcinoma[J]. *Mol Oncol*, 2013, 7(6):1031 – 1042
- 20 Yang C, Fischer – Kešo R, Schlechter T, *et al.* Plakophilin 1 – deficient cells upregulate SPOCK1: implications for prostate cancer progression[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(12):9567 – 6577
- 21 Schulz WA, Ingenwerth M, Djuidje CE, *et al.* Changes in cortical cytoskeletal and extracellular matrix gene expression in prostate cancer are related to oncogenic ERG deregulation[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10:505
- 22 Chaturvedi A, Yu L, Linskey ME, *et al.* Detection of 1p19q deletion by real – time comparative quantitative PCR[J]. *Biomark Insights*, 2012, 7:9 – 17
- 23 Kim HP, Han SW, Song SH, *et al.* Testican – 1 – mediated epithelial – mesenchymal transition signaling confers acquired resistance to lapatinib in HER2 – positive gastric cancer[J]. *Oncogene*, 2014, 33(25):3334 – 3341
- 24 Wen W, Ding J, Sun W, *et al.* Cyclin G1 – mediated epithelialmesenchymaltransition via phosphoinositide 3 – kinase/Akt signaling facilitates liver cancer progression [J]. *Hepatology*, 2012, 55(6): 1787 – 1798

(收稿日期:2015 – 10 – 22)

(修回日期:2015 – 11 – 05)