

# GKN1 在胃癌中的表达及其作用机制的研究进展

陈江波 李医明 蔡相军

**摘要** 探讨胃动蛋白 1 (Gastrophilin-1, GKN1) 在胃癌中表达的意义及作用机制。**方法** 整理近年来国内外关于 GKN1 与胃癌的文献资料, 予归纳综述。**结果** GKN1 在胃癌组织中的表达下调或缺失, GKN1 的表达不仅能维持胃黏膜稳态, 还能诱导胃癌细胞的凋亡。**结论** 深入研究 GKN1 抑制胃癌发生、发展的作用机制可为胃癌的诊治提供新思路。

**关键词** 胃动蛋白 1 胃肿瘤 基因 胃黏膜 BRICHOS 结构域

**中图分类号** R735.2 R656.6

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.09.050

胃癌是世界上最常见的致死性癌症之一, 晚期胃癌普遍预后不良, 其早期诊断尤为重要<sup>[1]</sup>。在正常胃黏膜中, 细胞的增殖与凋亡之间保持动态平衡以维持自身稳态, 而幽门螺杆菌感染、胃酸过量分泌和有毒物质的摄入等因素均可破坏胃黏膜稳态, 导致胃炎或胃癌的发生。近来胃动蛋白 1 (gastrophilin-1, GKN1) 成为胃癌相关基因的研究热点之一, GKN1 是胃动蛋白家族的成员之一, 在正常胃黏膜中表达丰富, 但在胃癌组织中表达降低, 提示 GKN1 可能是一种抑癌基因<sup>[2]</sup>。Toback 等<sup>[3]</sup>研究表明, GKN1 的表达能保护胃窦黏膜并且对其损伤后的增殖、修复有促进作用, 而 GKN1 的表达缺失易诱发胃癌, 并能促进肿瘤细胞的侵袭和转移。结合目前国内外研究, 本文在总结 GKN1 的结构特点及生理功能的基础上, 就其在胃癌组织中的表达及作用机制作简要综述。

## 一、GKN1 的基因特点

GKN1 的基因位于染色体 2p13.3, 长约 6kb, 其中有 6 个外显子和 5 个内含子, 转录出的 RNA 有 750 个碱基对, 翻译出的肽链由 183 ~ 185 个氨基酸残基组成, 且第 54 ~ 150 位氨基酸残基形成 1 个保守的结构域 BRICHOS。因此, GKN1 的基因序列在不同种属动物的胃黏膜中高度保守, 其在胃黏膜的表达具有促进胃黏膜上皮细胞的分裂和移行、维持胃黏膜完整、促进损伤修复和抑制肿瘤活性等功能<sup>[3]</sup>。除了在胃黏膜上皮, Oien 等<sup>[2]</sup>发现在食管的胃黏膜化生上皮、溃疡相关细胞和卵巢黏液性肿瘤中也存在

GKN1 的表达。

## 二、GKN1 的结构功能域

GKN1 的编码产物都有 1 个 BRICHOS 结构功能域, 编码蛋白的氨基酸序列有 4 个位置保守的半胱氨酸残基来维持其稳定。Yoon 等<sup>[4]</sup>研究表明, GKN1 的氨基端疏水区 and BRICHOS 结构域可能通过抑制 DNMT1 (DNA methyltransferase 1) 和 EZH2 (enhancer of zeste homolog 2) 的表达以及 DNMI (Dynamin-1) 的活性来减少表观遗传修饰, 从而降低胃癌细胞的生存能力并抑制其增殖。这些研究提示 GKN1 的氨基端疏水区域和 BRICHOS 结构域可能是抑制肿瘤活动的主要功能域, 其在基因水平上的改变或缺失可能导致 GKN1 蛋白失去功能<sup>[5]</sup>。

## 三、GKN1 在正常胃黏膜的表达及生理功能

GKN1 mRNA 是正常胃黏膜中含量最多的转录基因, 约占胃总体 mRNA 的 1%。在人体中, GKN1 mRNA 和蛋白主要分布在胃窦和胃底表面的黏膜细胞中<sup>[2,6]</sup>。在免疫金标记实验中发现 GKN1 存在于胃黏膜上皮细胞的分泌颗粒中, 故推测 GKN1 是通过分泌蛋白在细胞内外发挥作用的<sup>[3,7]</sup>。GKN1 通过填补上皮细胞表层的孔隙来维持黏膜上皮的完整性, 还能调节细胞的增殖与分化<sup>[2]</sup>。然而, 后来有研究发现, 胃上皮细胞中的 GKN1 过度表达会抑制细胞增殖, 并通过激活 p16/Rb 通路来诱导 Fas 介导的细胞衰老和凋亡<sup>[6,8]</sup>。GKN1 可能根据细胞类型的不同而发挥特异性作用, 从而促进或抑制细胞生长。Toback 等<sup>[3]</sup>实验发现, 服用吡哆美辛的小鼠, 在胃黏膜出现损伤之前, 胃窦黏膜中 GKN1 含量就已经下降; 而 GKN1 又可刺激已损伤的胃黏膜细胞生长和修复, 表明 GKN1 可能具有保护胃黏膜组织和促进愈合的功能。GKN1 在 Hp 感染后的胃黏膜上皮中表达下调, Yoon

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目 (201602751)

作者单位: 110000 沈阳, 中国医科大学 (陈江波、蔡相军); 110003 沈阳, 中国人民解放军第 202 医院普通外科 (李医明、蔡相军)

通讯作者: 蔡相军, 电子信箱: 536474013@qq.com

等<sup>[9]</sup>进一步研究了 GKN1 的表达与 Hp 的毒素相关基因 A (cytotoxin - associated gene, CagA) 的关系, 结论是 GKN1 的表达可以抑制幽门螺杆菌的致癌效应。

#### 四、GKN1 在胃癌组织中的表达及作用机制

Yoon 等<sup>[6]</sup>通过免疫组化分析得出, 在胃腺瘤和胃癌中, 分别有 36 例 (90%) 和 170 例 (89.5%) 存在 GKN1 表达缺失, 且 GKN1 的表达缺失与肿瘤的位置、分化程度、浸润深度、临床分期及淋巴结转移情况均无明显关系。因此, GKN1 的失活可能与早期胃癌相关。但是, Moss 等<sup>[10]</sup>在弥漫型胃癌和肠型胃癌的标本中检测到 GKN1 表达缺失的比例分别为 78% 和 42%, 而且 GKN2 的表达缺失与 GKN1 呈正相关。他们认为, GKN1 和 GKN2 的表达缺失也许和肠型胃癌患者的生存率降低有关, 是否将 GKN1 和 GKN2 作为胃癌患者预后的评估标准, 仍需要进行大规模的临床研究来验证。GKN1 的表达在慢性胃炎、慢性萎缩性胃炎、胃黏膜肠上皮化生、不典型增生和胃癌这几种病变中依次序下降, 这些病理变化代表了胃癌发展的不同阶段, 可见 GKN1 的表达变化贯穿在胃组织癌变的整个过程中。接下来笔者以胃癌的易感因素为切入点, 从多方面讨论 GKN1 在胃癌中的作用机制。

1. GKN1 与胃泌素的关系: 胃泌素是一种胃肠分泌的肽类激素, 不仅通过自分泌与旁分泌的方式调节胃酸的分泌与维持, 还能调节胃上皮细胞的增殖、衰老、迁移和侵袭。研究表明, 高胃泌素血症与慢性幽门螺杆菌感染可作为联合因素促进胃腺癌的发生, 可见高分泌的胃泌素也是胃癌的危险因素之一<sup>[11]</sup>。胃泌素能诱导胃癌细胞 AGS 和 MKN1 中 NF -  $\kappa$ B 信号通路的活化, 并增加胆囊收缩素 B 受体 (CCKBR)、上皮生长因子受体 (EGFR) 和肝细胞生长因子受体 (c - Met) 的表达, 而 GKN1 又能抑制 NF -  $\kappa$ B 信号通路的活化和 CCKBR、EGFR 的表达, 并且能直接结合 c - Met 蛋白使其表达下调, 从而抑制胃泌素的作用<sup>[12]</sup>。研究发现, 在具有高胃泌素血症的动物胃部组织中检测到 CCKBR 蛋白过度表达, GKN1 的表达与胃泌素、CCKBR mRNA 呈负相关<sup>[13]</sup>。由此推断, GKN1 可能通过抑制胃泌素 - CCKBR 信号通路来对抗胃泌素的致癌作用并且维持了胃黏膜稳态<sup>[12]</sup>。

2. GKN1 与幽门螺杆菌的关系: 目前, 炎症已被视为多种癌症发展的高危因素, 它有促进肿瘤相关基因过度甲基化的作用, 这是抑癌基因失活的重要机制之一。幽门螺杆菌 (Hp) 感染与其导致的胃黏膜慢性炎症是胃癌发生和发展的主要环节, 在黏膜萎缩、肠

化生、不典型增生和癌变各阶段均有重要影响。GKN1 mRNA 和蛋白在 Hp 阳性的胃黏膜组织中表达下调<sup>[14]</sup>。CagA 是由 Hp 通过 IV 型分泌系统进入胃黏膜上皮细胞的, 该蛋白能诱导细胞增殖、促进活性氧产生、增加抗凋亡蛋白活性, 这都有利于细胞的迁移和侵袭<sup>[9]</sup>。Choi 等<sup>[15]</sup>研究发现, 当 CagA 阳性时, GKN1 的表达水平显著降低, 胃黏膜可见萎缩、单核细胞浸润和肠上皮化生等病理改变。为了分析 CagA 对 GKN1 表达的影响机制, Yoon 等<sup>[9]</sup>研究发现, CagA 诱导产生的活性氧通过减少 GKN1 的 DNA 和 mRNA 的复制数目来下调 GKN1 的表达。相反, GKN1 能诱导抗氧化酶 MnSOD 和过氧化氢酶的表达, 从而抑制了 CagA 的致癌作用。除此之外, GKN1 也通过与 CagA 结合来阻止其进入细胞<sup>[9]</sup>。总之, GKN1 可抑制 CagA 产生的负面效应, 是维护胃黏膜稳态的重要抑癌基因。

3. GKN1 与 SOX9 的关系: SOX9 是 SOX 家族的成员之一, 它作为一种转录因子, 在多个细胞谱系的发展与分化中起核心作用。SOX9 是经典 Wnt/ $\beta$  - 链蛋白信号通路的调节因子<sup>[16]</sup>。Wnt 信号路径相关的基因与癌症的发生有关,  $\beta$  - 链蛋白是一种多功能蛋白, 它通过连接钙黏蛋白的胞质结构域, 在 Wnt 信号的转导和细胞间黏附起重要作用, 而 SOX9 是  $\beta$  - 链蛋白的靶蛋白。Choi 等<sup>[17]</sup>在实验中检测了 SOX9 在分别转染了  $\beta$  - 链蛋白和 GKN1 的 AGS 与 MKN1 细胞中的表达水平, 结果显示,  $\beta$  - 链蛋白会诱导 SOX9 在 AGS 细胞中的表达, 然而 GKN1 会抑制 SOX9 在 AGS 和 MKN - 1 细胞的表达。如前所述, GKN1 是一种胃黏膜的保护性基因, 其过度表达可以诱导癌细胞死亡, Choi 等<sup>[17]</sup>因此认为, GKN1 可能通过灭活异常 SOX9 来发挥抑癌效应, 而 GKN1 的失活可能导致 SOX9 基因异常表达, 这可认为与早期胃癌发展相关。

4. GKN1 与上皮间质转化 (epithelial - mesenchymal - transition, EMT) 的关系: EMT 是一个正常的生理过程, 在此过程中, 细胞从稳定上皮表型转变为不稳定的间叶表型, 这种现象可见于损伤反应、器官纤维化和癌症。在上皮细胞来源的肿瘤中, EMT 使细胞具有侵袭力, 从而破坏和侵入周围的正常组织, 包括血管和淋巴管, 还能扩散至其他组织器官<sup>[18]</sup>。活性氧 (ROS) 能刺激 EMT, 且细胞经历 EMT 时被发现有 PI<sub>3</sub>K/Akt 信号的激活<sup>[19]</sup>。Yoon 等<sup>[20]</sup>研究表明, GKN1 能减少活性氧的产生、抑制 PI<sub>3</sub>K/Akt 通路并灭活依赖 NF -  $\kappa$ B 的基质金属结合蛋白, 从而抑制

EMT 和胃癌细胞的迁移。

5. GKN1 与 miR - 185、RhoA、miR - 34a 的相互关系:Choi 等<sup>[15]</sup>研究认为,GKN1 和 miR - 185 的蛋白表达呈正相关。Yoon 等<sup>[11]</sup>研究还发现,通过 GKN1 - miR - 185 - DNMT1 轴来调控表观遗传和细胞周期可抑制胃癌细胞的增殖及恶化。RhoA 是一种能调节细胞收缩和运动的小 GTP 结合蛋白,它还能调控一些信号通路来影响基因的表达和细胞的增殖与分化。Yoon 等<sup>[21]</sup>分析了 35 份胃癌组织中 GKN1、RhoA、miR - 185 和 miR - 34a 的表达水平,结果发现有 15 例(42.9%) RhoA 高度表达,GKN1 与 RhoA 的表达呈负相关,GKN1 在胃癌细胞 AGS 和 MKN1 中的异常表达会显著下调 RhoA 的表达。同时实验发现 GKN1 能诱导 miR - 185 的表达,而 miR - 185 可能通过结合 RhoA 3'端的 UTR 区域结合位点来抑制 RhoA 的表达。

miR - 34a 是 p53 的关键成员之一,为肿瘤的抑癌基因。根据 Yoon 等<sup>[21]</sup>研究,miR - 34a 在胃癌组织的表达明显下降,并与 GKN1 和 miR - 185 的表达呈正相关,与 RhoA 的表达呈负相关。GKN1 上调了 miR - 34a 的表达,并使 c - Myc 和 RhoA 的表达显著下降,而 c - Myc 是 miR - 34a 的靶基因,miR - 34a 的沉默能诱导 c - Myc 的表达。他们也在 c - Myc 3'端的 UTR 区域找到了 miR - 34a 可能的结合位点,因此,GKN1 可能通过上调 miR - 34a 来抑制 c - Myc 的表达,而王莉等<sup>[22]</sup>研究发现 RhoA 与 c - Myc 在胃癌中的表达具有相关性,它们可能共同促进癌细胞的浸润和转移。在 GKN1 和 siRhoA 转染的细胞和 GKN1 重组加工的细胞中观察到,细胞迁移几乎被完全抑制了。GKN1 可能通过上调 miR - 185 和 miR - 34a 来影响 RhoA 的表达,从而抑制胃癌细胞的侵袭和转移<sup>[21]</sup>。

6. GKN1 和 NF -  $\kappa$ B 信号通路的关系:NF -  $\kappa$ B 是一个与很多生物功能相关的转录因子,尤其与幽门螺杆菌诱导炎症和免疫反应以及 IL - 1 和 TNF -  $\alpha$  的产生关系密切。NF -  $\kappa$ B 通路的异常激活会导致胃癌细胞快速增殖、免于凋亡、基因失去稳定性。Yoon 等<sup>[23]</sup>发现 GKN1 的表达能通过抑制 I -  $\kappa$ B 的降解和磷酸化来抑制 NF -  $\kappa$ B 信号通路的激活和核转位,从而使 IKK $\alpha$ /b 失活并增强 Foxp3 的表达。目前已经证实,Foxp3 能直接作用于 NF -  $\kappa$ B,调控其转录,阻断 CAMP 反应元件结合蛋白(CREB)等关键诱导蛋白。GKN1 可能通过抑制 NF -  $\kappa$ B 和 COX - 2 的

表达、调节细胞因子的产生,促进炎性细胞的聚集来发挥抗癌作用。

7. GKN1 与端粒的关系:端粒的作用是防止染色体末端融合并维持染色体稳定。在肿瘤细胞中,端粒的持续存在通常伴有端粒酶的激活,从而使基因水平上受损的 DNA 避免了正常衰老和凋亡的结局。Yoon 等<sup>[9]</sup>研究结果表明,c - Myc 能诱导端粒延长,而 GKN1 能抑制 c - Myc 在胃癌组织中的表达从而缩短端粒长度,促进胃癌细胞的衰老和凋亡。

## 五、展 望

Kim 等发现,GKN1 可通过抑制 NF -  $\kappa$ B 信号通路上调 GKN2 的表达,而 GKN2 又可抑制 GKN1 的生物活性,GKN1、GKN2 都是胃组织中特异性的抑癌基因,两者相互调控,共同维持胃肠道稳态。目前,针对 GKN1 和胃癌的关系,国内外学者已有不少研究,但 GKN2、GKN3 及其与 GKN1 的联系系研究相对较少,可作为进一步探索的方向。关于 GKN1 的表达水平对胃癌患者预后的影响,还有待进一步的临床随访和数据支持。GKN1 早在胃黏膜损伤及癌前病变时就有表达下调或缺失,且随着胃部病变的进展,GKN1 的表达水平有着逐渐下降趋势,若检测技术普及,GKN1 可作为胃癌筛查和早期诊断的潜在分子标志物。GKN1 与多种致癌及抑癌因素密切相关,进一步研究其抑制胃癌发生、发展的分子机制,可为胃癌的早期诊治提供新思路。

## 参考文献

- 1 张颖一,清水汪,王雅杰. 胃癌分子靶向治疗进展[J]. 医学研究杂志,2015,42(1):4-7
- 2 Oien KA, Mc Gregor F, Butler S, *et al.* Gastrokine 1 is abundantly and specifically expressed in superficial gastric epithelium, down-regulated in gastric carcinoma, and shows high evolutionary conservation [J]. Pathology, 2004, 203(3):789-797
- 3 Toback FG, Walsh - Reitz MM, Musch MW, *et al.* Peptide fragments of AMP - 18, a novel secreted gastric antrum mucosal protein, are mitogenic and motogenic [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2003, 285(2):G344-G353
- 4 Yoon JH, Choi WS, Kim O, *et al.* The role of gastrokine 1 in gastric cancer [J]. J Gastric Cancer, 2014, 14(3):147-155
- 5 Yoon JH, Choi YJ, Choi WS, *et al.* Functional analysis of the NH2-terminal hydrophobic region and BRICHOS domain of GKN1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 440(4):689-695
- 6 Yoon JH, Song JH, Zhang C, *et al.* Inactivation of the Gastrokine 1 gene in gastric adenomas and carcinomas [J]. Pathology, 2011, 223(5):618-625
- 7 Menheniott TR, Kurklu B, Giraud AS. Gastrokines: stomach-specific proteins with putative homeostatic and tumor suppressor roles

- [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2013, 304(2): G109 – G121
- 8 Yoon JH. GKN1 – miR – 185 – DNMT1 axis suppresses gastric carcinogenesis through regulation of epigenetic alteration and cell cycle [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(17): 4599 – 4610
- 9 Yoon JH, Seo HS, Choi SS, *et al.* Gastrokine 1 inhibits the carcinogenic potentials of Helicobacter pylori CagA [J]. Carcinogenesis, 2014, 35(11): 2619 – 2629
- 10 Moss SF, Lee JW, Sabo E, *et al.* Decreased expression of gastrokine 1 and threfoil factor interacting protein TFIZ1/GKN2 in gastric cancer: influence of tumor histology and relationship to prognosis [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(13): 4161 – 4167
- 11 Burkitt MD, Varro A, Pritchard DM. Importance of gastrin in the pathogenesis and treatment of gastric tumors [J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(1): 1 – 16
- 12 Kim O, Yoon JH, Choi WS, *et al.* Gastrokine 1 inhibits gastrin – induced cell proliferation [J]. Gastric Cancer, 2016, 19(2): 381 – 391
- 13 Ashurst HL, Varro A, Dimaline R. Regulation of mammalian gastrin/ CCK receptor (CCK2R) expression in vitro and in vivo [J]. Exp Physiol, 2008, 93(2): 223 – 236
- 14 郭晓燕, 姜旻, 董蕾, 等. 胃动蛋白 1 在胃癌组织中的表达 [J]. 山西医科大学学报, 2015, 46(1): 13 – 16
- 15 Choi WS, Seo HS, Song KY, *et al.* Gastrokine 1 expression in the human gastric mucosa is closely associated with the degree of gastritis and DNA methylation [J]. J Gastric Cancer, 2013, 13(4): 232 – 241
- 16 Kormish JD, Sinner D, Zorn AM. Interactions between SOX factors and Wnt/beta – catenin signaling in development and disease [J]. Dev Dyn, 2010, 239(1): 56 – 68
- 17 Choi YJ, Song JH, Yoon JH, *et al.* Aberrant expression of SOX9 is associated with gastrokine 1 inactivation in gastric cancers [J]. Gastric Cancer, 2014, 17(2): 247 – 254
- 18 Nieto MA, Cano A. The epithelial – mesenchymal transition under control: global programs to regulate epithelial plasticity [J]. Semin Cancer Biol, 2012, 22(5 – 6): 361 – 368
- 19 Radisky DC, Levy DD, Littlepage LE, *et al.* Rac1b and reactive oxygen species mediate MMP – 3 – induced EMT and genomic instability [J]. Nature, 2005, 436(7047): 123 – 127
- 20 Yoon JH, Kang YH, Choi YJ, *et al.* Gastrokine 1 functions as a tumor suppressor by inhibition of epithelial – mesenchymal transition in gastric cancers [J]. Cancer Res Clin Oncol, 2011, 137(11): 1697 – 1704
- 21 Yoon JH, Choi WS, Kim O, *et al.* Gastrokine 1 inhibits gastric cancer cell migration and invasion by downregulating RhoA expression [J]. Gastric Cancer, 2016; 1 – 12
- 22 王莉, 张旭, 刘丽秋, 等. RhoA 和 C – myc 在胃癌发生发展中的表达及意义 [J]. 实用医学杂志, 2014, 19: 3087 – 3089
- 23 Yoon JH, Cho ML, Choi YJ, *et al.* Gastrokine 1 regulates NF – kappaB signaling pathway and cytokine expression in gastric cancers [J]. J Cell Biochem, 2013, 114(8): 1800 – 1809

(收稿日期: 2016 – 12 – 19)

(修回日期: 2016 – 12 – 19)

## 脓毒症心肌抑制发病机制的分子研究进展

林乐清 金光勇

**摘 要** 脓毒症是由感染引起的全身炎性反应综合征, 可发展为严重脓毒症和脓毒性休克。近年来, 脓毒症的发生率在不断上升, 其病死率高。同时脓毒症临床救治困难, 并发症严重, 可导致心肌抑制, 且无特效治疗, 究其原因是脓毒症心肌抑制的发病机制目前尚未明确。脓毒症心肌抑制的发病机制复杂, 涉及组织、器官、细胞等多层面的因素, 而目前分子机制方面的研究尤为受到关注, 本文就此进行综述。

**关键词** 心肌抑制 脓毒症 分子

**中图分类号** R541

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.09.051

脓毒症是由感染引起的全身炎性反应综合征, 可发展为严重脓毒症和脓毒性休克, 全球每年新增数百万脓毒症患者, 其中超过 1/4 的患者死亡<sup>[1]</sup>。脓毒症可导致多器官损害, 包括心脏<sup>[2]</sup>。早在 1951 年, 科学家 Waisbren 首次报道脓毒症可导致心肌抑制, 称

为脓毒症心肌抑制 (sepsis – induced myocardial dysfunction, SIMD), 表现为心脏扩大、射血分数下降、对液体复苏及儿茶酚胺反应差等。据报道诊断为脓毒性休克的患者约 40% 存在心室收缩功能障碍, 至发病 2 ~ 3 天后该发生率可增至 60%<sup>[3]</sup>。同时, 心肌抑制是脓毒症患者预后不良的主要指标之一, 其病死率接近 70%<sup>[4]</sup>。SIMD 临床救治困难且预后较差, 同时目前尚无针对 SIMD 的特效治疗, 这可能是因为目前对于脓毒症心肌抑制的发病分子机制尚未研究透彻。

基金项目: 杭州市卫生科技计划项目 (2016A21)

作者单位: 310015 杭州师范大学附属医院重症医学科

通讯作者: 林乐清, 主任医师、硕士生导师, 电子信箱: happylin67

@126.com