

Thsd7a 与人类疾病关系的研究进展

侯志超 伊力亚尔·夏合丁

摘要 Thsd7a 是 KIAA 家族的 0960 成员, 全称为血小板反应蛋白 1 型域 7a。Thsd7a 从 1999 年被首次报道以后, 受到的关注较少。直到 2011 年以后, 由于逐渐发现其与骨质疏松症、肿瘤、膜性肾病等疾病密切相关, 研究人员开始更多的关注 Thsd7a 的生物学特点。研究发现 Thsd7a 不仅能够影响神经血管的生成、特发性膜性肾病的预后, 而且能够通过多种经典的肿瘤相关通路影响肿瘤的发生、发展及肿瘤患者的预后。本文从 Thsd7a 的结构特点、分子生物学功能特征、相关疾病研究和临床意义等方面进行综述。

关键词 血小板反应蛋白 1 型域 7a 生物学特点 功能 综述

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.07.042

血小板反应蛋白 1 型域 7a (thrombospondin type 1 domain containing 7a, Thsd7a) 又称凝血酶敏感蛋白 I 型域 7a。近年来研究人员对 Thsd7a 的兴趣已经扩展到了多种疾病模型和生物体。Thsd7a 只要表达在细胞膜, 在不同组织差异较大。关于 Thsd7a 所在的染色体结构, Bosco 等^[1] 在研究人类 7p 染色体末端区域共同脆弱点 FRA7B 表征的过程中发现, 染色体 7p21 的序列是在不同类型的肿瘤中都经常出现染色体异常的一个频发脆弱区。而 Thsd7a 基因 (长度为 458kb) 定位在 G - B 7p21.3。笔者认为 Thsd7a 基因可能是调节细胞功能的重要基因之一。另外, 值得关注的是, Du 等^[2] 研究发现血小板反应蛋白 1 型重复 O - 岩藻糖基化 (Thsd7a 也含有该结构) 能够制约上皮间质转化 (epithelial - mesenchymal transition, EMT) 和维护小鼠肠外胚层分化。Thsd7a 在非肿瘤研究中发现通过 TGF - β 等发挥功能, 在肿瘤研究中通过 mTOR 等信号通路发挥功能。目前已经发现 Thsd7a 主要与骨质疏松症、肿瘤、膜性肾病和合并其他情况的膜性肾病相关。

一、Thsd7a 与骨质疏松症

Zhou 等^[3] 在研究 2427 例尸检椎骨骨折情况的过程中, 发现了亚胺甲基转移酶 N 亚结构基因与 Thsd7a 基因的相关性。研究者曾研究过骨质疏松的易感基因, 亚胺甲基转移酶 N 亚结构基因和 Thsd7a,

并明确了两个基因的单核苷酸多态性位点, 即 rs7605378 (亚胺甲基转移酶 N 亚结构基因) 和 rs12673692 (Thsd7a)。在此基础上, 研究者进一步围绕这两个单核苷酸多态位点, 研究它们与脊椎骨折的相关性。该研究发现, 同时存在 rs7605378 等位基因纯合子 (AA 型) 和 rs12673629 (AA 型) 的患者椎体骨折的风险显著升高。并据此推测以上两个位点与骨折的发病风险显著相关。另外, Mori 等^[4] 报道, 患有骨质疏松症的日本女性的骨密度低与 Thsd4 和 Thsd7a 基因编码的遗传变异相关。作者认为, Thsd7a 和 Thsd4 位点变异可能是日本女性骨质疏松症的决定性因素。文献显示编码 Thsd4 和 Thsd7a 的基因上的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 可能与椎骨和股骨骨密度相关, 最明显的差异为 Thsd7a 的 SNP rs12673692。在研究者建立的实验模型中, Thsd7a 和 Thsd4 与股骨的骨密度明显相关, Thsd7a 与骨质疏松症关系密切。文献报道, 1 型重复序列的血小板反应蛋白 (type 1 repeats in thrombospondin - 1, THSD) 与 TGF - β 相关, 而 TGF - β 与骨基质的形成相关。所以该作者进一步开展了 Thsd4 和 Thsd7a 与骨密度的关系研究。针对 337 例日本骨质疏松症女性腰椎和股骨的骨矿物质密度 (bone mineral density, BMD) 测量结果进行基因分型, 通过分析日本人口中 Thsd4 和 Thsd7a 基因遗传变异以及等位基因频率的单核苷酸多态性发现了两个高频位点如下: rs10851839 (Thsd4) 和 rs12673692 (Thsd7a)。方差分析和线性回归分析, 检测到 Thsd7a SNP rs12673692 基因型与骨质疏松症的显著相关性。研究者分析了 Thsd7a 和 Thsd4 遗传变异导

基金项目: 新疆维吾尔自治区研究生科研创新项目 (XJGR2016073)

作者单位: 830054 乌鲁木齐, 新疆医科大学第一附属医院胸外科

通讯作者: 伊力亚尔·夏合丁, 主任医师, 教授, 电子信箱: ilyarsha

@sina.com

致骨质疏松症的相关基因。发现 A 等位基因纯合子 rs12673692 Thsd7a SNP 是骨质疏松的重要危险因素之一,而 A 等位基因纯合子 Thsd4 SNP rs10851839 是日本成年女性的骨质疏松症的保护因素之一。因此, Thsd4 和 Thsd7a 基因可能在骨质疏松症发病过程中发挥重要作用,当然其机制可能涉及到 TGF- β 的活性,因此作者认为值得进一步研究,并推荐采用大型队列研究中的纵向研究来进行功能研究,澄清 Thsd7a 和 Thsd4 变化带来的骨代谢的改变。

二、Thsd7a 与肿瘤

研究者从 1 例 Thsd7a 阳性的膜性肾病伴腺神经内分泌瘤的现象作为研究出发点,试图采用组织微阵列芯片进行免疫组化实验研究 Thsd7a 表达与 70 种不同类型肿瘤的相关性^[5,6]。研究发现, Thsd7a 在不同类型肿瘤中的表达差异巨大。结果显示 Thsd7a 在前列腺癌、乳腺癌、肾细胞癌和结直肠癌高表达。关于肾细胞癌, Thsd7a 在肾透明细胞癌、肾乳头状癌和肾嫌色细胞癌表达差异大。Thsd7a 在肾透明细胞癌的阳性率为 13% (胞质和胞膜染色)、肾乳头状癌为 46% (胞质染色)、肾嫌色细胞癌为 70% (胞膜染色)。非肿瘤肾组织,肾小球为强阳性染色,近端、远端肾小管和集合管为弱阳性染色。总体上, Thsd7a 的表达与肾细胞癌的肿瘤浸润和远处转移显著相关。透明细胞癌临床分期、肿瘤浸润和远处转移与 Thsd7a 的表达显著相关。但是各种类型肾细胞癌中没有发现与预后的相关性。关于结直肠癌, Thsd7a 的阳性率为 43%,主要为管腔着色,少部分为胞质着色。非肿瘤组织表现为弱或者中度胞质着色。总体上, Thsd7a 的表达与临床分期、淋巴结转移、分化程度和脉管转移显著相关。另外, Thsd7a 的表达与预后相关。关于乳腺癌, Thsd7a 的阳性率为 42%,主要为胞质着色,少部分为胞膜着色。癌旁组织表现为弱或者中度胞质和管腔着色。关于前列腺癌, Thsd7a 的阳性率为 64%,主要为胞质着色,少部分为膜着色。只有少数的癌旁组织着色且表达较弱。Thsd7a 的表达与格里森评分等级、肿瘤分期、淋巴结转移、血清前列腺特异性抗原 (prostate-specific antigen, PSA) 显著相关。综合大样本的实验,虽然相对于癌旁正常组织 Thsd7a 在乳腺癌组织高表达,但其表达与乳腺癌的临床病理参数以及预后没有发现显著相关性。Thsd7a 在乳腺癌的临床意义需要进一步的研究。另外, Thsd7a 的低表达与结直肠癌和肾细胞癌的临床病理参数相关。而 Thsd7a 的高表达与前列腺癌的不

良预后显著相关。

另外,陈婧等^[7]通过研究 Thsd7a 在肝细胞癌中的表达及其与预后的关系发现, Thsd7a 的表达与肝癌的临床病理参数相关。Thsd7a 蛋白的表达与患者结节数、Edmondson - Steiner 分级、BCLC 分期相关。Thsd7a 蛋白低表达患者的预后明显差于 Thsd7a 高表达的肝癌患者。通过肿瘤组织样品研究发现了 Thsd7a 与肝癌的临床相关性,但是以上两个研究只是通过免疫组化实验从临床样品观察 Thsd7a 在多种肿瘤组织中的表达量并没有通过功能学实验的方法明确基因发挥的功能,更没有深入研究 Thsd7a 在肿瘤发生、发展过程中所发挥功能的通路。

而在食管癌研究中, Hou 等^[8]深入分析了 Thsd7a 在肿瘤中的功能和相关机制。作者从新疆哈萨克族食管癌术后患者的标本的免疫组化和 qRT-PCR 实验开始,通过包括细胞功能学在内的多种实验方法,探究和分析了 3 个层次 (人体组织、细胞和动物模型) 中 Thsd7a 的功能。在此基础上,该文献又进一步通过高通量芯片研究了食管癌细胞系 Thsd7a 的下游基因和功能通路,并用 RT-PCR 进行了初步的验证。通过多种体内外实验技术,最终作者研究发现 Thsd7a 和中国新疆地区的哈萨克族食管鳞癌有一定的临床相关性。通过敲除 Thsd7a 基因,发现食管鳞癌细胞系 (Eca 109 和 EC 9706) 的侵袭、迁移和增殖能力均显著降低。另外,敲除 Thsd7a 后,肿瘤细胞周期阻滞于 G₁ 期,细胞凋亡率也显著增加。将敲除 Thsd7a 的人食管癌 Eca 109 细胞移植于裸鼠皮下,结果显示对食管癌细胞的成瘤能力有显著影响。高通量的基因微阵列芯片结果和 qRT-PCR 的验证结果说明, Thsd7a 通过包括 mTOR、MAPK 和 Wnt 等多种肿瘤相关经典通路来影响肿瘤的发生和发展。研究者认为 Thsd7a 在食管鳞癌中可能有一定的促癌功能,值得进一步深入研究相关机制。

三、Thsd7a 与膜性肾病

Tomas 等^[9]在研究特发性膜性肾病磷脂酶 A₂ 受体 1 (phospholipase A₂ receptor 1, PLA₂R1) 表达阴性患者的过程中,发现了一个相对分子质量为 250kDa 的肾小球蛋白。虽然这个新发现的抗原与 PLA₂R1 显著不同,但该蛋白表现出了多种生物学功能,如糖基化、定位于膜表面,在非还原条件下与血清的反应活性等。通过进一步的质谱分析、免疫组化和免疫沉淀等实验,明确了该抗原为凝血酶敏感蛋白 1 型 7A 域 (Thsd7a)。另外,作者在一位伴有膜性肾病和系统

性红斑狼疮的女性和一位伴有膜性肾病和前列腺癌的老年男性体内也发现了 Thsd7a 抗原阳性。进一步的研究发现, Thsd7a 血清抗体(anti - Thsd7a)主要的类型为 IgG4 亚类,与肾活检的结果一致。而且 anti - Thsd7a 阳性的患者均为特发性膜性肾病而不是继发性膜性肾病。膜性肾病患者体内的 anti - Thsd7a 抗体水平随着疾病活动的减少而出现一定程度的下降。研究者认为通过血清学检测和组织学染色来监控 anti - Thsd7a 的水平,从而可能实现更有效和及时治疗特发性膜性肾病。Hoxha 等^[15]在研究磷脂酶 A₂ 受体抗体阴性和 Thsd7a 抗体阴性的膜性肾病患者过程中发现,双抗体阴性患者预后明显优于阳性组,即使没有给予任何治疗或者仅给予支持治疗。研究者推测双抗体阴性的患者可能即使选择不治疗,也会有良好的预后。这也从侧面反应了 Thsd7a 与膜性肾病患者预后的相关性。

在 Xu 等^[11]对膜性肾病的综述中,总结了 Thsd7a 是特发性膜性肾病中新发现的抗原类型,但是相应的致病机制仍不清楚。因此,研究者认为在相应的专业领域中需要给予更多的关注和研究。另外,值得注意的是,Iwakura 等^[12]在研究日本肾小球特发性膜性肾病患者 Thsd7a 表达率过程中明确了,日本患者 Thsd7a 的阳性率要高于美国和欧洲的患者。另外, Tomas 等^[13]在研究 Thsd7a 对于膜性肾病的致病性时发现了 1 例 Thsd7a 阳性的膜性肾病患者,最终发展到终末期肾病,并随后进行了肾移植。遗憾的是,在移植以后又迅速出现了复发。通过肾移植术前后的 Thsd7a 特异性增强染色,表明 Thsd7a 诱导了移植后的膜性肾病复发。研究者发现 Thsd7a 表达在人和小鼠的足细胞足突。采用小鼠模型发现 Thsd7a 可以诱导蛋白尿,并最终形成典型的膜性肾病病理学模式。因此,研究者通过人体、小鼠以及原代肾小球上皮细胞和人胚胎肾 293 细胞,证明了 Thsd7a 的致病作用。此外,De Vriese 等^[14]综述血清学方法研究膜性肾病相关文献的过程中提到,anti - Thsd7a 抗体的水平有膜性肾病的活动程度密切相关^[15]。值得思考的是,Hoxha 等^[16]探索了采用间接免疫荧光法检测 Thsd7a 的情况。相对于常规的 Western blot 法检测实验,间接免疫荧光的敏感度为 92%、特异性为 100%。在 345 例膜性肾病患者中,Thsd7a 的阳性率为 2.6%,且绝大多数为女性。同时发现,Thsd7a 阳性患者的疾病严重程度高于 PLA₂R1 阳性的患者。在 40 例 Thsd7a 阳性患者中,有 8 例逐渐发展为恶性肿瘤,中

位进展时间为膜性肾病诊断后 3 个月。其中有 1 例进展为子宫内膜癌。研究者认为 Thsd7a 和 PLA₂R1 的检测可能有利于恶性肿瘤的筛查,这方面也需要进一步研究探讨。与此同时,Lin 等^[17]通过临床大样本筛查中国人膜性肾病的生物学标志物的过程中,采用血液、组织和尿液检测膜性肾病的特异分子。综合以上结果,研究者认为 Thsd7a 虽然与膜性肾病有一定的相关性,具有敏感度较低、特异性较高的特点,但不能用于鉴别原发性和继发性膜性肾病。

Francis 等^[18]的膜性肾病综述中,明确了 PLA₂R 是主要抗原,Thsd7a 为次要抗原。总结肾活检和血清学实验发现 Thsd7a 的疾病诊断特异性和敏感度都低于 PLA₂R。另外,Larsen 等^[19]通过 258 例连续肾活检并进行免疫组化实验,再加上血清学检测,结果找到了 2 例 Thsd7a 和 PLA₂R 双阳性的患者,由此得出结论 Thsd7a 和 PLA₂R 之间并不互相排斥。而且 Catran 等^[20]综述了特发性膜性肾病基础和临床研究相关的检测指标。文章分析了 PLA₂R 和 Thsd7a 对膜性肾病检测的特异性和敏感度,并总结了 PLA₂R 和 Thsd7a 存在 5% ~ 10% 患者共同表达阴性。此外,Pourcine 等^[21]在长达 14 年的研究 PLA₂R 在膜性肾病预后价值过程中发现,大约 10% 的 PLA₂R 阴性患者出现 Thsd7a 表达阳性。

综上所述,Thsd7a 涉及的功能包括影响细胞生长、分化及上皮间转化;影响细胞黏附能力;影响细胞骨架的稳定性;影响细胞增殖和凋亡。而在肿瘤相关研究中发现,Thsd7a 与前列腺癌、乳腺癌、肾细胞癌、结直肠癌、肝癌和食管癌显著相关,在功能上 Thsd7a 能够通过作用于肿瘤相关的多个经典通路和下游靶基因来影响肿瘤的发生、发展。但 Thsd7a 在疾病特别是肿瘤发生、发展过程中的具体作用机制目前还没有阐明,值得进一步深入研究。

参考文献

- 1 Bosco N, Pelliccia F, Rocchi A. Characterization of FRA7B, a human common fragile site mapped at the 7p chromosome terminal region [J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 202(1):47
- 2 Du J, Takeuchi H, Leonhardmelief C, et al. O - Fucosylation of thrombospondin type 1 repeats restricts epithelial to mesenchymal transition (EMT) and maintains epiblast pluripotency during mouse gastrulation [J]. *Dev Biol*, 2010, 346(1):25 - 38
- 3 Zhou H, Mori S, Kou I, et al. Association of the formiminotransferase N - terminal sub - domain containing gene and thrombospondin, type 1, domain - containing 7A gene with the prevalence of vertebral fracture in 2427 consecutive autopsy cases [J]. *J Human Genet*, 2013, 58(2):109 - 112

- 4 Mori S, Kou I, Sato H, *et al.* Association of genetic variations of genes encoding thrombospondin, type 1, domain – containing 4 and 7A with low bone mineral density in Japanese women with osteoporosis [J]. *J Hum Genet*, 2008, 53(8):694 – 697
- 5 Hoxha E, Wiech T, Stahl P R, *et al.* A mechanism for cancer – associated membranous nephropathy [J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(20):1995 – 1996
- 6 Stahl PR, Hoxha E, Wiech T, *et al.* Thsd7a Expression in Human Cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2017, 56(4):1 – 55
- 7 陈婧,刘挺,武步强,等. 域含蛋白7A在肝细胞癌中的表达及其与预后的关系[J]. *中国普通外科杂志*,2016,25(2):252 – 256
- 8 Hou Z, Abudurehman A, Wang L, *et al.* Expression, prognosis and functional role of Thsd7a in esophageal squamous cell carcinoma of kazakh patients, Xinjiang[J]. *Oncotarget*, 2017,39:3310 – 3319
- 9 Tomas NM, Beck LH Jr, Meyer – Schwesinger C, *et al.* Thrombospondin type – 1 domain – containing 7A in idiopathic membranous nephropathy[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(24):2277
- 10 Hoxha E, Harendza S, Pinnschmidt H O, *et al.* Spontaneous remission of proteinuria is a frequent event in phospholipase A₂ receptor antibody negative patients with membranous nephropathy[J]. *Nephrol Dialys, Transplant*, 2015, 30(11):1862 – 1869
- 11 Xu J, Hu X, Xie J, *et al.* Management of membranous nephropathy in Asia[J]. *Kidney Dis*, 2015, 1(2):119 – 125
- 12 Iwakura T, Ohashi N, Kato A, *et al.* Prevalence of enhanced granular expression of thrombospondin type – 1 domain – containing 7A in the glomeruli of Japanese patients with idiopathic membranous nephropathy[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9):e0138841
- 13 Tomas NM, Hoxha E, Reinicke AT, *et al.* Autoantibodies against thrombospondin type 1 domain – containing 7A induce membranous nephropathy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(7):2519 – 2532
- 14 De Vriese AS, Glasscock RJ, Nath KA, *et al.* A proposal for a serology – based approach to membranous nephropathy[J]. *J Am So Nephrol*, 2016, 28(1):1 – 10
- 15 Tomas NM, Beck LH, MeyerSchwesinger C, *et al.* Thrombospondin Type – 1 Domain – Containing 7A in Idiopathic Membranous Nephropathy[J]. *New Engl J Med*, 2015, 372(11):2277 – 2283
- 16 Hoxha E, Wiech T. An indirect immunofluorescence method facilitates detection of thrombospondin type 1 domain – containing 7A – specific antibodies in membranous nephropathy[J]. *J Am So Nephrol J*, 2016, 28(2):520 – 529
- 17 Lin L, Wang WM, Pan XX, *et al.* Biomarkers to detect membranous nephropathy in Chinese patients [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(42):67868 – 67879
- 18 Francis JM, Salant DJ. Membranous nephropathy: a journey from bench to bedside[J]. *Am J Kidney Dis*, 2016, 68(1):138 – 148
- 19 Larsen CP, Cossey LN, Beck LH. Thsd7a staining of membranous glomerulopathy in clinical practice reveals cases with dual autoantibody positivity[J]. *Modern Pathol*, 2016, 29(4):421 – 427
- 20 Cattran DC, Brenchley PE. Membranous nephropathy: integrating basic science into improved clinical management [J]. *Kidney Int*, 2017, 91(3):566 – 575
- 21 Pourcine F, Dahan K, Mihout F, *et al.* Prognostic value of PLA2R autoimmunity detected by measurement of anti – PLA2R antibodies combined with detection of PLA2R antigen in membranous nephropathy: a single – centre study over 14 years[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3):e0173201

(收稿日期:2017 – 08 – 28)

(修回日期:2017 – 10 – 10)

(上接第 178 页)

- 10 Kovac SR. Clinical opinion: guidelines for hysterectomy[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191(2):635 – 640
- 11 李华军,冷金花,郎景和. 子宫切除术的发展和手术途径的选择[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2009, 10(3):166 – 168
- 12 Sheth SS, Paghdiwalla KP, Hajari AR. Vaginal route: a gynaecological route for much more than hysterectomy[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2011, 25(2):115 – 132
- 13 Doucette RC, Sharp HT, Alder SC. Challenging generally accepted contraindications to vaginal hysterectomy[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 184(7):1386 – 1389
- 14 Boukerrou M, Lambaudie E, Collinet P, *et al.* A history of cesareans is a risk factor in vaginal hysterectomies[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2003, 82(12):1135 – 1139
- 15 Rooney CM, Crawford AT, Vassallo BJ, *et al.* Is previous cesarean section a risk for incidental cystotomy at the time of hysterectomy? A case – controlled study[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 193(6):2041 – 2044
- 16 Paparella P, Sizzi O, Rossetti A, *et al.* Vaginal hysterectomy in generally considered contraindications to vaginal surgery[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2004, 270(2):104 – 109
- 17 Schmitt JJ, Occhino JA, Weaver AL, *et al.* Outcomes of vaginal hysterectomy with and without perceived contraindications to vaginal surgery[J]. *Female Pelvic Med Reconstr Surg*, 2017, epub ahead of print
- 18 Brill AI. Hysterectomy in the 21st century: different approaches, different challenge[J]. *Clin obstet Gynecol*, 2006, 49:722 – 735
- 19 Kelath D, Vitonis AF, Missmer SA. Association of Body Mass Index and morbidity after abdominal, vaginal, and laparoscopic hysterectomy [J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 125(3):589 – 598
- 20 Harmanli OH, Dandolu V, Isik EF, *et al.* Does obesity affect the vaginal hysterectomy outcomes? [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2011, 283(4):795 – 798
- 21 Teeluckdharry B, Gilmour D, Flowerdew G. Urinary tract injury at benign gynecologic surgery and the role of cystoscopy: a systematic review and meta – analysis [J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 126(6):1161 – 1169
- 22 Ramdhan RC, Loukas M, Tubbs RS. Anatomical complications of hysterectomy: a review[J]. *Clin Anat*, 2017, 30(7):946 – 952

(收稿日期:2018 – 03 – 08)

(修回日期:2018 – 03 – 25)