

· 综 述 ·

骨桥蛋白与肿瘤休眠关系研究进展*

王世岐¹, 杨乾坤¹, 刘祖娟¹综述; 李玉红^{2△}审校

(1. 第三军医大学学员旅五队, 重庆 400038; 2. 第三军医大学基础医学部细胞生物学教研室, 重庆 400038)

关键词: 肿瘤; 骨桥蛋白; 休眠期; 转移; 复发

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.08.045

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)08-0944-03

原发灶肿瘤治疗前或者在其根治性切除及放疗中, 一部分肿瘤细胞经淋巴道或者外周循环播散至全身组织器官, 由于机体的免疫杀伤和机械损伤等因素的作用, 仅有一小部分转移的肿瘤细胞存活下来并植入骨髓、脑、肝、肺和肾等组织器官进入休眠期状态, 或者在这些靶组织或器官的血管周围形成一个直径为 1~2 mm 的肿瘤孤立细胞克隆^[1]。免疫抑制、间质的缺乏和原发肿瘤释放的抑制因子等因素促使这些肿瘤细胞进入并保持休眠状态。但是, 在外科手术或放疗等因素刺激下原发灶肿瘤细胞表达骨桥蛋白(osteopontin, OPN), 导致处于休眠状态的肿瘤细胞被激活甚至转移形成新的病灶^[2]。近年来, 研究发现 OPN 在肿瘤休眠细胞免疫应答、发生、发展和转移中发挥着关键性的作用。有研究发现“煽动者”肿瘤细胞表达 OPN 能“唤醒”处于休眠中的“回应者”肿瘤细胞, 加速休眠中的“回应者”肿瘤细胞快速繁殖并发生转移形成新的病灶, 阻止“煽动者”细胞 OPN 的表达后, “煽动者”肿瘤细胞继续生长繁殖, 而“回应者”细胞却并不增殖生长而处于休眠状态^[3]。OPN 作为一种特殊的分子, 在休眠期肿瘤的再次复发及转移中具有关键性的作用。

1 OPN 的生物学功能

1979 年有研究首次报道与恶性转化有关的一种包含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)整合素结合区的磷酸化糖蛋白, 从骨基质和牙齿中分离出一种与转化相关性磷酸蛋白相似特性的磷酸蛋白并将其命名为 OPN, 后来在不同的组织细胞如骨细胞、成骨细胞、破骨细胞、软骨细胞、神经细胞、上皮细胞、内皮细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞、活化的 T 细胞、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)以及肿瘤细胞中均发现 OPN 的表达。OPN 通过其高度保守的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列和非精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列分别与整合蛋白膜受体或 CD44 膜受体结合后, 引发肿瘤免疫应答、炎症反应、血管生成和转移等反应^[4]。

整联蛋白是一种由 α 和 β 亚单位构成的二聚体细胞膜表面受体蛋白, 整联蛋白中 $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha v\beta 1$ 、 $\alpha v\beta 5$ 、 $\alpha 9\beta 1$ 、 $\alpha 4\beta 1$ 等与 OPN 作用密切相关。 $\alpha v\beta 5$ 广泛存在于正常组织细胞中, OPN 通过与肿瘤细胞表面表达异常丰富的 $\alpha v\beta 3$ 受体结合后激活 PI3K/AKT 和 ERK 等信号通路, 引发尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)的分泌、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)的活化及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的分泌并启动新生血管生成^[5]。

CD44 是一种细胞与细胞外基质、细胞与细胞间的相互作用的跨膜糖蛋白受体, 根据 CD44 基因外显子表达方式的不同, 可分为标准型 CD44(CD44S) 和拼接 CD44(CD44V) 两种

亚型, 并且多种肿瘤细胞表面都存在 CD44S 和 CD44V 表达的上调。OPN 的非精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸依赖序列与 CD44 结合可引起成纤维细胞、T 细胞和骨髓源细胞化学趋化性增高^[6]。在肿瘤的发生、发展过程中, CD44V6 已经作为确定肝癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌和淋巴瘤等的转移标志物之一。肿瘤细胞 OPN 和 CD44V6 的表达量均上调并以非精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸依赖的方式相互结合后, 增强靶细胞之间的相互作用及抗凋亡能力, 进而导致肿瘤的进一步恶化^[4,7]。

2 OPN 促使休眠肿瘤转移复发

2.1 重塑休眠肿瘤的微环境 肿瘤细胞完成黏附, 从血管中外渗, 在新的组织器官中存活增殖并形成转移灶必须在一个适宜的微环境中才能完成。细胞外基质作为直接与休眠肿瘤细胞接触的关键组成部分, 是产生促使肿瘤生长、生存、运动和血管生成等因子的重要来源, 并能影响肿瘤生长和转移的进程, 缺乏细胞外基质的肿瘤细胞将不能进行增殖生长等一系列活动。因此, 肿瘤细胞与细胞外基质之间的相互作用可能是调节休眠肿瘤细胞进入增殖转移状态的关键所在^[8]。肿瘤细胞外基质的重塑过程中, 微环境内正常的纤维细胞并不具备细胞外基质重塑的功能, 而是通过肿瘤相关的成纤维细胞重塑休眠肿瘤的微环境。目前, 肿瘤相关的成纤维细胞来源争议较大: 一是骨髓源间质干细胞和内皮细胞在 OPN 作用下被激活并招募至微环境中, 骨髓源间质干细胞通过分化的方式, 而内皮细胞通过内皮-间质转化方式转化为肿瘤相关的成纤维细胞从而发挥功能^[9-10]; 二是肿瘤微环境中 OPN 上调纤维细胞向肿瘤相关的成纤维细胞转化。给小鼠移植乳腺癌细胞和间质干细胞的研究中发现, OPN 通过促使间质干细胞分化为肿瘤相关的成纤维细胞后, 乳腺癌细胞在小鼠移植模型中迅速进入快速增殖期并发生转移^[11]。招募的骨髓源间质细胞、内皮细胞以及微环境中的纤维细胞等在 OPN 的作用下转化为肿瘤相关的成纤维细胞后重塑休眠肿瘤微环境内的细胞外基质, 构建一个适合肿瘤细胞在此生长、黏附、浸润和增殖生长的微环境。此外, 体内以及体外研究发现衰老的成纤维细胞高表达 OPN, 而衰老成纤维细胞能促进肿瘤生长, 采用 RNA 干扰技术干扰衰老成纤维细胞 OPN 的表达后, 衰老的成纤维细胞的促肿瘤生长作用受到明显的影响^[12]。OPN 可能通过促使微环境中具有抑制肿瘤发展作用的纤维细胞衰老而促使肿瘤细胞生长。

2.2 抗肿瘤细胞的凋亡 休眠的肿瘤微环境中肿瘤可能处于增殖与凋亡的平衡期。OPN 通过与肿瘤细胞表面的 $\alpha v\beta 3$ 或 CD44 受体作用后激活 PI3K/AKT 等信号途径抑制肿瘤的凋

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81101208)。 作者简介: 王世岐(1990~), 本科, 主要从事肿瘤发生相关研究。 △ 通讯作者,

Tel: (023)68753260; E-mail: liyuhong@tmmu.edu.cn。

亡促使休眠的肿瘤进入增殖生长期。体内和体外研究中采用 RNA 干扰技术干扰肿瘤细胞 OPN 的表达后发现,乳腺癌、肾癌、胃癌和神经胶质瘤等细胞凋亡明显被抑制^[13-16]。运用他汀类和环磷酰胺等药物抑制卵巢癌细胞和乳腺癌细胞 OPN 的表达均获得了相似的结果^[17-18],表明高表达 OPN 的肿瘤细胞处于快速的增殖生长的状态。此外,研究发现处于休眠中的肿瘤细胞 ERK/P38 比率低,OPN 通过激活 ERK 使 ERK/P38 比率升高促使休眠的肿瘤进入增殖生长期^[19]。

2.3 免疫逃逸 机体中清除异常的肿瘤细胞主要通过效应细胞 CTL、NK 细胞和巨噬细胞等细胞免疫反应,这些效应细胞释放 γ -干扰素、肿瘤坏死因子、酶类等途径杀伤肿瘤细胞。在机体免疫压力下休眠的肿瘤细胞长期存活但不能增殖而进入免疫平衡状态。但是,OPN 可能使休眠的肿瘤细胞逃避免疫系统杀伤而进入增殖生长期。2000 年有研究发现,肿瘤细胞分泌的 OPN 与其受体整合蛋白或 CD44 受体结合后,可进一步与补体因子 H 结合,使肿瘤细胞穿上“分子隔离衣”而免受补体系统攻击。2006 年有研究发现,OPN 抑制微环境中诱生型氧化亚氮合酶的合成从而抑制氧暴发的发生,使肿瘤细胞得以在微环境中存活。此外,OPN 可能通过促使肿瘤微环境中的肿瘤细胞和肿瘤相关的成纤维细胞产生趋化因子诱导大量骨髓源抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)进入肿瘤微环境,大量的 MDSC 抑制 T 细胞、NK 细胞等免疫细胞的功能,进而抑制机体的抗肿瘤免疫,最终导致肿瘤细胞逃避免疫系统的杀伤^[20]。

2.4 新生血管的生成 肿瘤休眠的微环境内的肿瘤细胞由于处于无血管状态,致使肿瘤细胞缺乏营养物质和代谢废物的清除能力,导致这些肿瘤细胞不能迅速增殖并形成巨大的转移灶。研究表明血管的生成是休眠肿瘤形成巨大转移灶的前提和基础,没有新生血管的生成,微环境内休眠肿瘤将持续处于休眠状态^[21]。OPN 不仅促使微环境内的休眠的肿瘤细胞和肿瘤相关的成纤维细胞合成分泌 VEGF 从而引发血管的生成,而且还招募大量的内皮细胞参与血管的生成,促使休眠中的肿瘤细胞进入增殖生长期。Liu 等^[22]采用免疫组化化学和酶联免疫吸附等研究方法分析 33 例鼻腔内翻性乳头状瘤和 15 例对照组发现,OPN 与 VEGF 的高表达对肿瘤的发展具有关键性的促进作用。持续表达的 VEGF 不仅促使内皮细胞加速增殖和迁移,还分泌尿激酶型纤溶酶原激活物和抑制因子等蛋白酶穿过血管下基底膜向肿瘤组织迁移,促进新生血管床的形成。肿瘤细胞也在这些蛋白酶的作用下向相反的方向运动,使肿瘤细胞更易于再次浸润和转移,这些肿瘤细胞以“阿米巴运动”的方式穿出血管壁后再次播散至全身引发肿瘤的全身性转移性大暴发。

3 休眠肿瘤转移复发的生物学标志物

OPN 在促使休眠肿瘤细胞增殖和转移中发挥着重要的功能。肺癌、肾癌、骨肉瘤、乳腺癌等多种肿瘤患者的外周血和骨髓中均发现有大量 OPN 的存在,而这也往往是肿瘤患者病情恶化的先兆,因此,OPN 可以作为检测肿瘤是否复发很好的生物学标记的指标之一^[23]。在肺癌早期患者中发现血浆 OPN 含量增加,而在肺癌切除术后血浆 OPN 含量迅速下降。然而,当肺癌复发时,血浆 OPN 含量又会增加,这使得 OPN 成为肺癌增殖和侵袭的生物标志之一的重要依据^[24]。在乳腺癌、肺癌、脑膜瘤等研究中也证实 OPN 的表达水平与肿瘤的转移复发具有密切的关系。此外,OPN 在肝癌患者术前的分期和术后预后都具有重要的指导意义。OPN 在休眠肿瘤的复发中并非特异性表达,炎症反应和缺血、缺氧等条件刺激下正常组织

也高表达 OPN。因此,研究 OPN 与 CD44 等共同作为判断休眠肿瘤复发的标志物具有更大的现实意义。

4 展望

OPN 作为一种独特的糖蛋白,参与了肿瘤细胞的迁移、增殖及黏附等过程,在促使肿瘤休眠细胞微环境的重塑、血管生成和转移复发中发挥了重要的作用。目前,对于 OPN 与肿瘤休眠的关系研究取得了很大的进步,但还有许多问题有待解决。OPN 作为由原发灶肿瘤细胞分泌并能激活招募骨髓源细胞的因子,它的持续存在对于保持骨髓细胞的激活状态是否是必要的呢?或者说原发灶肿瘤细胞去除后能否保持骨髓细胞活化?这些问题的答案都将影响对原发肿瘤切除后抑制肿瘤生长转移的治疗方法。当然,除原发性肿瘤的原因外或许有其他机制促使休眠肿瘤复发不为人所知,因此,探究激活和招募骨髓源细胞的机制可能对控制临床上的转移性肿瘤休眠的复发具有重大意义。

参考文献:

- [1] Aguirre-Ghiso JA. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(11):834-846.
- [2] Goss PE, Chambers AF. Does tumour dormancy offer a therapeutic target[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(12):871-877.
- [3] Mcallister SS, Gifford AM, Greiner AL, et al. Systemic endocrine instigation of indolent tumor growth requires osteopontin[J]. *Cell*, 2008, 133(6):994-1005.
- [4] Wai PY, Kuo PC. Osteopontin: regulation in tumor metastasis[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2008, 27(1):103-118.
- [5] Rangaswaswami H, Bulbule A, Kundu GC. Osteopontin: role in cell signaling and cancer progression[J]. *Trends Cell Biol*, 2006, 16(2):79-87.
- [6] Wang KX, Denhardt DT. Osteopontin: role in immune regulation and stress responses [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2008, 19(5/6):333-345.
- [7] Staibano S, Merolla F, Testa D, et al. OPN/CD44v6 overexpression in laryngeal dysplasia and correlation with clinical outcome [J]. *Br J Cancer*, 2007, 97(11):1545-1551.
- [8] Barkan D, Green JE, Chambers AF. Extracellular matrix: a gatekeeper in the transition from dormancy to metastatic growth[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(7):1181-1188.
- [9] Kidd S, Spaeth E, Dembinski JL, et al. Direct evidence of mesenchymal stem cell tropism for tumor and wounding microenvironments using in vivo bioluminescent imaging [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(10):2614-2623.
- [10] Potenta S, Zeisberg E, Kalluri R. The role of endothelial-to-mesenchymal transition in cancer progression[J]. *Br J Cancer*, 2008, 99(9):1375-1379.
- [11] Mi Z, Bhattacharya SD, Kim VM, et al. Osteopontin promotes CCL5-mesenchymal stromal cell-mediated breast cancer metastasis[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(4):477-487.
- [12] Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression[J]. *Nature*, 2004, 432(7015):332-337.

- [13] Wang ZM, Cui YH, Li W, et al. Lentiviral-mediated siRNA targeted against osteopontin suppresses the growth and metastasis of gastric cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(4):997-1003.
- [14] Yang L, Zhao W, Zuo WS, et al. Silencing of osteopontin promotes the radiosensitivity of breast cancer cells by reducing the expression of hypoxia inducible factor 1 and vascular endothelial growth factor [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(2):293-299.
- [15] Zhang A, Liu Y, Shen Y, et al. Osteopontin silencing by small interfering RNA induces apoptosis and suppresses invasion in human renal carcinoma Caki-1 cells [J]. *Med Oncol*, 2009, 27(4):1179-1184.
- [16] Yan W, Qian C, Zhao P, et al. Expression pattern of osteopontin splice variants and its functions on cell apoptosis and invasion in glioma cells [J]. *Neuro Oncol*, 2010, 12(8):765-775.
- [17] Matsuura M, Suzuki T, Suzuki M, et al. Statin-mediated reduction of osteopontin expression induces apoptosis and cell growth arrest in ovarian clear cell carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2010, 25(1):41-47.
- [18] Pang H, Cai L, Yang Y, et al. Knockdown of osteopontin chemosensitizes MDA-MB-231 cells to cyclophosphamide by enhancing apoptosis through activating p38 MAPK pathway [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2011, 26(2):165-173.
- [19] Sosa MS, Avivar-Valderas A, Bragado P, et al. ERK1/2 and p38alpha/beta signaling in tumor cell quiescence: opportunities to control dormant residual disease [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(18):5850-5857.
- [20] Ochando JC, Chen SH. Myeloid-derived suppressor cells in transplantation and cancer [J]. *Immunol Research*, 2012, 54(1/3):275-285.
- [21] Naumov GN, Folkman J, Straume O. Tumor dormancy due to failure of angiogenesis: role of the microenvironment [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2009, 26(1):51-60.
- [22] Liu W, Li Z, Luo Q, et al. The elevated expression of osteopontin and vascular endothelial growth factor in sinonasal inverted papilloma and its relationship with clinical severity [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2011, 25(5):313-317.
- [23] Anborgh PH, Mutrie JC, Tuck AB, et al. Pre- and post-translational regulation of osteopontin in cancer [J]. *J Cell Commun Signal*, 2011, 5(2):111-122.
- [24] Blasberg JD, Pass HI, Goparaju CM, et al. Reduction of elevated plasma osteopontin levels with resection of non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(6):936-941.

(收稿日期:2012-12-03 修回日期:2012-12-25)

• 综 述 •

胸腺瘤外科治疗进展

牛会军 综述, 赵云平, 蒋耀光[△] 审校

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所胸外科/全军胸外科研究所, 重庆 400042)

关键词: 胸腺肿瘤/外科治疗; 胸腺肿瘤切除术; 复发; 治疗结果; 综述

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.08.046

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)08-0946-04

胸腺瘤较为少见,其发病率为 0.15/10 万人,但却是前纵隔最常见的肿瘤之一,占前纵隔肿瘤的 20%,成人可达 50%。由于异位胸腺的存在,约 10%的胸腺瘤位于颈部或纵隔的其他区域^[1],手术切除是治疗胸腺肿瘤的重要手段。现将近年有关胸腺瘤外科治疗的进展综述如下。

1 胸腺瘤的组织学分类和临床分期

1.1 胸腺瘤组织学分类 根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)1999 年胸腺瘤的组织学分类提出新的组织学分类方法,这种分类方法是以 Müller-Hermelink 分类为基础,根据胸腺上皮细胞形态及组织中淋巴细胞与上皮细胞比例进行分类。1994 年进一步修订为以下 6 型:A 型由梭形或椭圆形上皮细胞组成,缺乏核异型性,不含典型或肿瘤淋巴细胞;B 型由圆形上皮样细胞组成,B 型又按照淋巴细胞比例的增加情况进一步分为 B1、B2 和 B3 型;AB 型为二者的混合表现,与 A 型类似,但含有肿瘤淋巴细胞;C 型表现明显恶性肿瘤细胞学特征,亦称为胸腺癌。A 型、AB 型为良性肿瘤,B1 型为低度恶性,B2 型为中度恶性,B3 或 C 型为高度恶性^[2-3]。这一分类公布后,已在临床得到广泛应用。尽管 WHO 分类仍存在一些缺点,但许多临床研究显示,这一分类对预测胸腺瘤的

预后具有重要意义,也是胸腺瘤患者手术后长期生存的独立因素^[4-5]。

1.2 Masaoka 临床分期 1994 年修订后的 Masaoka 临床分期^[6]对治疗方式和手术方法的选择以及预后的判定均有重要意义,是影响预后的独立因素。

1.3 组织学分类及 Masaoka 临床分期 组织学分类及 Masaoka 临床分期均是影响胸腺瘤远期效果的独立因素,二者的相关性非常密切。Ströbel 等^[5]研究认为,80%的 A 型、AB 型、B1 型患者为 Masaoka 分期 I 期或 II 期。在 Margaritora 等^[7]报道 317 例胸腺瘤外科治疗后长达 35 年的随访,证实其远期生存率、Masaoka 临床分期与 WHO 组织学分类有显著的相关性,因而除手术是否完全切除外,应将 WHO 组织学分类和 Masaoka 临床分期相结合,对临床治疗和预后的判定具有更重要的价值。

2 临床表现

胸腺瘤多见于成人,青少年较为少见,但亦有发生在婴幼儿的报道。小的胸腺瘤患者可无症状,常于体格检查或其他原因行影像学检查发现前纵隔包块。当肿瘤增大浸润或压迫邻近组织或器官,可有胸痛、心慌、气短、刺激性咳嗽、声音嘶哑或