

- atrial fibrillation[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(18):1895-1896.
- [16] Lyles KW, Colón-Emeric CS, Magaziner JS, et al. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture[J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(18):1799-1809.
- [17] Karam R, Camm J, McClung M. Yearly zoledronic acid in postmenopausal osteoporosis[J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(7):712-713.
- [18] Heckbert SR, Li G, Cummings SR, et al. Use of alendronate and risk of incident atrial fibrillation in women[J]. *Arch Intern Med*, 2008, 168(8):826-831.
- [19] Sorensen HT, Christensen S, Mehnert F, et al. Use of bisphosphonates among women and risk of atrial fibrillation and flutter: population based case-control study[J]. *BMJ*, 2008, 336(7648):813-816.
- [20] Abrahamsen B, Eiken P, Brixen K. Atrial fibrillation in fracture patients treated with oral bisphosphonates[J]. *J Intern Med*, 2009, 265(5):581-592.
- [21] Bunch TJ, Anderson JL, May HT, et al. Relation of bisphosphonate therapies and risk of developing atrial fibrillation[J]. *Am J Cardiol*, 2009, 103(6):824-828.
- [22] Grosso A, Douglas I, Hingorani A, et al. Oral bisphosphonates and risk of atrial fibrillation and flutter in women: a self-controlled case-series safety analysis[J]. *PLoS One*, 2009, 4(3):e4720.
- [23] Loke YK, Jeevanantham V, Singh S. Bisphosphonates and
- atrial fibrillation: systematic review and meta-analysis [J]. *Drug Saf*, 2009, 32(3):219-228.
- [24] Bhuriya R, Singh M, Molnar J, et al. Bisphosphonate use in women and the risk of atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Cardiol*, 2010, 142(3):213-217.
- [25] Mak A, Cheung MW, Ho RC, et al. Bisphosphonates and atrial fibrillation: Bayesian meta-analyses of randomized controlled trials and observational studies[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2009, 10(1):113.
- [26] Poole KE, Reeve J, Warburton EA. Falls, fractures, and osteoporosis after stroke: time to think about protection? [J]. *Stroke*, 2002, 33(5):1432-1436.
- [27] Vasikaran SD. Bisphosphonates: an overview with special reference to alendronate[J]. *Ann Clin Biochem*, 2001, 38(Pt6):608-623.
- [28] Kim HW, Park CW, Shin YS, et al. Calcitriol regresses cardiac hypertrophy and QT dispersion in secondary hyperparathyroidism on hemodialysis [J]. *Nephron Clin Pract*, 2006, 102(1):21-29.
- [29] Van Wagoner DR, Nerbonne JM. Molecular basis of electrical remodeling in atrial fibrillation[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2000, 32(6):1101-1117.

(收稿日期:2013-11-08 修回日期:2014-01-29)

• 综 述 •

## 卵泡抑素样蛋白 1 在恶性肿瘤及免疫调节中的作用研究进展\*

吴森勇<sup>1</sup>, 唐朝贤<sup>2</sup>综述, 温文胜<sup>1△</sup>审校

(1. 广西医科大学第一附属医院耳鼻咽喉-头颈外科, 南宁 530021; 2. 重庆市肿瘤医院头颈外科, 重庆 400030)

**关键词:** FSTL1; 信号通路; 肿瘤; 肿瘤免疫

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.16.041

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1671-8348(2014)16-2076-03

卵泡抑素样蛋白 1(FSTL1)又名卵泡抑素相关蛋白(FRP)或转化生长因子 $\beta$ 1 诱导蛋白 36(TSC-36),是细胞外基质蛋白家族成员之一。FSTL1 由多种细胞分泌,具有调控细胞增殖、分化、凋亡、新陈代谢等多种生物学功能。近年来文献报道 FSTL1 在炎症、心血管疾病、内分泌疾病、自身免疫性疾病、肿瘤等方面都有初步研究,但其抑制肿瘤的作用机制仍不清楚。最新的肿瘤治疗研究中,免疫治疗成为一个新的研究热点,细胞免疫疗法(CI)可能成为继手术、化疗、放疗和分子靶向治疗后的第 5 种方法。考虑肿瘤免疫调控也可能是 FSTL1 的作用机制之一。因此,本综述对以往文献进行复习,简要阐明 FSTL1 在肿瘤免疫调节中的研究进展。

### 1 FSTL1 的特性

**1.1 FSTL1 的结构特点** FSTL1 属于 SPARC 家族的成员,其主要成员有 MAST9、QR-1/ SC1/ hevin、SMOC、TESTIN

等。FSTL1 基因定位于 3q13 染色体,FSTL1 的相对分子质量约为  $35 \times 10^3$ ,由 308 个氨基酸组成,末端为 12 个氨基酸残基。FSTL1 与 Follistatin 家族成员之间的共同氨基酸序列超过 2/3。FSTL1 和其他家族成员一样,具有细胞外钙结合区域(EC)和卵泡抑素样结构域(FS),其 EC 结构域中的第 1 个 EF 臂比其他家族成员少 1 个氨基酸,在高浓度  $Ca^{2+}$  的刺激下仍保持构型稳定。FSTL1 的保守区域 EC 区无功能,可能是 FSTL1 在进化中拥有与家族不同的其他功能的原因<sup>[1]</sup>。同时其 C-端存在与血友病因子(VWC)同源性的结构域,作用不详<sup>[2]</sup>。

FSTL1 几乎存在于所有的哺乳动物中,来源于人、鼠、短尾猴等的 FSTL1 同源性蛋白均已被测序和克隆。Tanaka 等<sup>[3]</sup>发现除外周淋巴细胞之外的所有细胞均有 FSTL1 分布,在心脏、卵巢、前列腺等组织器官表达更为显著。因此,FSTL1

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81060222)。 作者简介:吴森勇(1987-),硕士,主要从事鼻咽癌的诊治方向的研究。

△ 通讯作者,E-mail:wenwensheng2000@126.com。

的表达分布没有种属和器官特异性,表达水平与多器官、多系统有密切联系。

**1.2 FSTL1 的信号通路** 目前 FSTL1 生物学功能仍未完全清楚,可能受多重信号通路相互作用,根据文献分析,主要有以下几个方面:(1)转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )受体信号通路。FSTL1 主要通过 TGF- $\beta$  激活 SMAD 信号通路,具有 Akt 活性的细胞表面受体被 TGF- $\beta$  特异性结合并刺激发生应答反应。Murakami 等<sup>[4]</sup>研究表明,FSTL1 作为内源性 TLR4 受体激动剂可增加细胞因子白细胞介素(IL)-6 和 IL-8 的分泌,通过激活 TLR4 信号通路发挥作用。(2)AP-1 转录因子信号通路。AP-1 是一个作用于细胞内转录调节蛋白,可调节 AP-1 位点的靶基因转录<sup>[5]</sup>。Johnston 等<sup>[6]</sup>报道 AP-1 可上调 FSTL1 的表达,但目前仍没有发现其相关受体的联系。因此,FSTL1 在细胞内的具体信号通路仍不清楚。(3)雌激素受体信号通路。Ohashi 等<sup>[7]</sup>研究发现雌激素及受体调节剂可以使 FSTL1 基因表达上调。雌激素受体激活后可作为 AP-1 辅助因子增强 AP-1 转录活性,从而促进 AP-1 信号通路的表达<sup>[5]</sup>。(4)PI3K-Akt 信号通路。经典 PI3K-Akt 是组织细胞增殖和凋亡重要的调节通路<sup>[8]</sup>。Oshima 等<sup>[9]</sup>研究在转基因小鼠心脏中表达的 FSTL1 水平因 Akt 活化而上调,并且通过 ERK 信号及活化 Akt 的 Ser-473 位点抑制新生大鼠心肌细胞缺氧/复氧诱导的细胞凋亡。该信号通路可能是 FSTL1 抑制肿瘤细胞作用机制之一,具体信号位点仍需大量的实验研究。

## 2 FSTL1 与肿瘤的关系

FSTL1 没有器官特异性,而在肿瘤中的表达是异常的。研究发现<sup>[10]</sup>,人类多种肿瘤细胞中 FSTL1 表达下调,FSTL1 基因可由 TGF- $\beta$  诱导表达,因而 FSTL1 对肿瘤细胞的增殖与分化具有负调控作用。通过基因转录分析<sup>[11-14]</sup>,FSTL1 基因在肺癌、卵巢癌、肾透明细胞癌等肿瘤细胞中表达下调,在鼻咽癌中表达水平显著低于正常鼻咽组织。

FSTL1 具有抑制肿瘤细胞增殖和诱导肿瘤细胞凋亡功能。Sumitomo 等<sup>[15]</sup>通过基因检测小细胞肺癌(SCLC)细胞中未发现 FSTL1 基因表达,但在非小细胞肺癌(NSCLC)细胞中却有 FSTL1 转录表达,推测 FSTL1 具有抗肿瘤增殖的作用。Chan 等<sup>[12]</sup>通过 FSTL1 克隆的 cDNA 转染到卵巢癌细胞系和子宫内膜癌细胞株中,细胞增殖减慢,凋亡增加,表明 FSTL1 可诱导癌细胞凋亡。其诱导凋亡的机制可能是通过 FAS/FASLG 结合途径引起的。

Chan 等<sup>[12]</sup>发现 FSTL1 可抑制卵巢癌和子宫内膜癌细胞的侵袭和转移。FSTL1 可通过调节上皮细胞的侵袭及迁移来发挥抗肿瘤增殖作用,原因可能与基质金属蛋白酶表达及细胞的侵袭有密切关系。研究<sup>[11]</sup>表明,FSTL1 启动子与乙酰组蛋白 H3 和 H4 联系紧密,Cx43 转染后促进组蛋白 H3 和 H4 乙酰化,提高 FSTL1 的分泌及下调 MMP-2、S100A、LAMA4 等表达,抑制入侵和转移的人肺癌细胞(PG)。可见 FSTL1 可以抑制肿瘤细胞的浸润和转移,但在其他肿瘤中的作用仍需进一步研究。

75%的子宫内膜癌和约 90%的卵巢癌病例出现 FSTL1 下调,在骨肉瘤以及胃、肺、乳腺、结肠肿瘤等细胞株也发现 FSTL1 下调<sup>[12]</sup>,但其下调机制仍未明确。FSTL1 基因定位于 3q13 染色体,基因缺失可能性很小,其下调机制可能是基因突变或启动子甲基化等<sup>[16]</sup>。国内关于鼻咽癌研究中 FSTL1 基因表达水平是下降的,FSTL1 基因启动子 CpG 岛在鼻咽癌细

胞系和原发肿瘤为高甲基化,在正常鼻咽组织则为非甲基化,这可能是其表达失活的直接原因。而通过去甲基化药物 5-aza-dC 的作用,FSTL1 基因表达上调。

然而,Reddy 等<sup>[17]</sup>在研究胶质母细胞瘤(GBM)时发现,在原发性 GBM 中 FSTL1 表达水平升高,FSTL1 过度表达是 GBM 患者预后不良的一个标志。前列腺癌转移的相关基因芯片分析表明,FSTL1 表达提高与前列腺癌细胞的转移有紧密联系<sup>[18]</sup>。这表明 FSTL1 可能有双调控作用,具体还需要进一步的研究证明。

## 3 FSTL1 与肿瘤免疫的关系

FSTL1 也参与了多种疾病的免疫反应。FSTL1 可通过调节免疫因子中 IL-、基质金属蛋白酶与肿瘤坏死因子(TNF)等分泌水平参与组织免疫反应。FSTL1 与多种炎症因子有关,通过促进炎症因子的分泌增强肿瘤免疫功能。

近年来,研究发现 FSTL1 作为分泌蛋白影响免疫调控的过程。Li 等<sup>[19]</sup>研究表明全身性自体免疫疾病患者的血清 FSTL1 水平显著升高,包括系统性红斑狼疮、溃疡性结肠炎、干燥综合征等。另有研究表明<sup>[20]</sup>关节炎患者 FSTL1 的 mRNA 和蛋白水平显著升高,FSTL1 在滑膜组织的毛细血管内皮细胞高表达,但在关节软骨细胞中的表达很弱。

FSTL1 作为一个致炎因子<sup>[21]</sup>,可以通过促进肿瘤周边的抗原呈递细胞功能而促进细胞免疫反应。Miyamae 等<sup>[22]</sup>将转染 FSTL1 的腺病毒载体注射到小鼠体内可诱导巨噬细胞和成纤维细胞中的炎症细胞因子上调,包括 IL-1,IL-6,TNF- $\alpha$ 。FSTL1 过度表达可导致小鼠严重的足跖肿胀和关节炎。而 Kawabata 等<sup>[23]</sup>发现人工给药 FSTL1 的 BALB / c 小鼠抗体诱导的关节炎有所改善,可能原因是减少了滑膜基质金属蛋白酶的产生。这表明 FSTL1 对关节炎有改善作用。纤维母细胞产生的 FSTL1 刺激巨噬细胞分泌 IL-1 和 TNF- $\alpha$  增加,而增加的 IL-1 和 TNF- $\alpha$  反过来又刺激活化素的产生<sup>[24]</sup>。虽然活化素正常情况下能抑制 IL-6 活性,但是 FSTL1 通过结合活化素,导致 IL-6 的活性增加。因此,FSTL1 可以通过上调多种细胞因子发挥对肿瘤的细胞免疫调节作用。

Clutter 等<sup>[25]</sup>研究发现 FSTL1 能诱导先天免疫信号,包括增加 Toll 样受体激动剂和细胞因子 IL-1 的分泌,通过 NF- $\kappa$ B 通路发挥免疫效应。FSTL1 在增强干扰素信号通路中起着关键作用,作者推测 FSTL1 可能是连接先天性免疫和适应性免疫应答的桥梁。

## 4 结语与展望

目前,肿瘤免疫是国内外的一个研究热点,CI 能够靶向杀伤肿瘤细胞而不伤及正常组织细胞,并通过免疫记忆来预防肿瘤复发。随着抗原递呈机制与细胞对特异性抗原识别机制的揭示、众多重要的细胞因子及其功能的发现、分子与细胞克隆技术的发展,肿瘤细胞免疫治疗将成为肿瘤等疾病临床治疗新思路、新方法。

国内外大量研究显示,FSTL1 可通过抑制肿瘤细胞迁移与增殖,以及促进细胞凋亡而发挥抑瘤作用,也可通过调整机体的免疫水平来发挥抗肿瘤免疫作用。然而,FSTL1 在肿瘤免疫中的作用受体与机制,及分子信号通路等方面仍在进一步探索之中。总之,FSTL1 是肿瘤免疫治疗中重要的一员,有着潜在的靶向治疗前景。通过研究 FSTL1 在鼻咽癌的肿瘤免疫调控机制与功能,揭示 FSTL1 在肿瘤免疫反应中的机制及抑癌作用,将对肿瘤免疫反应及抑癌基因的研究有重要意义,并

可为寻求肿瘤免疫治疗,以及药物作用的靶点提供新的思路。

#### 参考文献:

- [1] Hambrock HO, Kaufmann B, Muller S, et al. Structural characterization of TSC-36/Flik; analysis of two charge isoforms[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(12): 11727-11735.
- [2] Zhou J, Liao M, Hatta T, et al. Identification of a follistatin-related protein from the tick haemaphysalis longicornis and its effect on tick oviposition[J]. *Gene*, 2006 (372): 191-198.
- [3] Tanaka M, Ozaki S, Osakada F, et al. Cloning of follistatin-related protein as a novel autoantigen in systemic rheumatic diseases[J]. *Int Immunol*, 1998, 10(9): 1305-1314.
- [4] Murakami K, Tanaka M, Usui T, et al. Follistatin-related protein/follistatin-like 1 evokes an innate immune response via CD14 and toll-like receptor 4[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(4): 319-324.
- [5] Dahlman-Wright K, Qiao Y, Jonsson P, et al. Interplay between AP-1 and estrogen receptor alpha in regulating gene expression and proliferation networks in breast cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(9): 1684-1691.
- [6] Johnston IM, Spence HJ, Winnie JN, et al. Regulation of a multigenic invasion programme by the transcription factor, AP-1; re-expression of a down-regulated gene, TSC-36, inhibits invasion[J]. *Oncogene*, 2000, 19(47): 5348-5358.
- [7] Ohashi T, Sato S, Yoshiki A, et al. TSC-36 (follistatin-related polypeptide) gene expression in estrogen receptor positive osteoblastic cell line, CDO7F[J]. *Calcif Tissue Int*, 1997, 61(5): 400-403.
- [8] Su Y, Gao L, Teng L, et al. Id1 enhances human ovarian cancer endothelial progenitor cell angiogenesis via PI3K/Akt and NF-kappaB/MMP-2 signaling pathways[J]. *J Transl Med*, 2013, 11(1): 132.
- [9] Oshima Y, Ouchi N, Sato K, et al. Follistatin-like 1 is an Akt-regulated cardioprotective factor that is secreted by the heart[J]. *Circulation*, 2008, 117(24): 3099-3108.
- [10] Mashimo J, Maniwa R, Sugino H, et al. Decrease in the expression of a novel TGF beta1-inducible and ras-reciprocal gene, TSC-36, in human cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 1997, 113(1/2): 213-219.
- [11] Zhao W, Han HB, Zhang ZQ. Suppression of lung cancer cell invasion and metastasis by connexin43 involves the secretion of follistatin-like 1 mediated via histone acetylation[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43(10): 1459-1468.
- [12] Chan QK, Ngan HY, Ip PP, et al. Tumor suppressor effect of follistatin-like 1 in ovarian and endometrial carcinogenesis; a differential expression and functional analysis[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(1): 114-121.
- [13] 周晓莹. 鼻咽癌甲基化谱的建立[D]. 南宁: 广西医科大学, 2009.
- [14] Tan X., Zhai Y, Chang W, et al. Global analysis of metastasis-associated gene expression in primary cultures from clinical specimens of clear-cell renal-cell carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(5): 1080-1088.
- [15] Sumitomo K, Kurisaki A, Yamakawa N, et al. Expression of a TGF-beta1 inducible gene, TSC-36, causes growth inhibition in human lung cancer cell lines[J]. *Cancer Lett*, 2000, 155(1): 37-46.
- [16] Fishman A, Shalom-Paz E, Fejgin M, et al. Comparing the genetic changes detected in the primary and secondary tumor sites of ovarian cancer using comparative genomic hybridization[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2005, 15(2): 261-266.
- [17] Reddy SP, Britto R, Vinnakota K, et al. Novel glioblastoma markers with diagnostic and prognostic value identified through transcriptome analysis[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(10): 2978-2987.
- [18] Trojan L, Schaaf A, Steidler A, et al. Identification of metastasis-associated genes in prostate cancer by genetic profiling of human prostate cancer cell lines[J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(1A): 183-191.
- [19] Li D, Wang Y, Xu N, et al. Follistatin-like protein 1 is elevated in systemic autoimmune diseases and correlated with disease activity in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(1): R17.
- [20] Wang Y, Li D, Xu N, et al. Follistatin-like protein 1; a serum biochemical marker reflecting the severity of joint damage in patients with osteoarthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(6): R193.
- [21] Chaly Y, Marinov AD, Oxburgh L, et al. FSTL1 promotes arthritis in mice by enhancing inflammatory cytokine/chemokine expression[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(4): 1082-1088.
- [22] Miyamae T, Marinov AD, Sowders D, et al. Follistatin-like protein-1 is a novel proinflammatory molecule[J]. *J Immunol*, 2006, 177(7): 4758-4762.
- [23] Kawabata D, Tanaka M, Fujii T, et al. Ameliorative effects of follistatin-related protein/TSC-36/FSTL1 on joint inflammation in a mouse model of arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(2): 660-668.
- [24] Mohan A, Asselin J, Sargent IL, et al. Effect of cytokines and growth factors on the secretion of inhibin A, activin A and follistatin by term placental villous trophoblasts in culture[J]. *Eur J Endocrinol*, 2001, 145(4): 505-511.
- [25] Clutter SD, Wilson DC, Marinov AD, et al. Follistatin-like protein 1 promotes arthritis by up-regulating IFN-gamma[J]. *J Immunol*, 2009, 182(1): 234-239.