

口腔鳞癌中蛋白酶抑制剂 Maspin的研究进展

罗 军¹, 季 彤²

[摘要] Maspin基因是一种肿瘤抑制基因,其产物是丝氨酸蛋白酶抑制剂,在肿瘤细胞的浸润、运动和血管生成中起重要作用,能抑制肿瘤的发生和发展。近年来的研究特别是对Maspin基因在肿瘤转移中作用的研究为阐明肿瘤转移机制和抗转移治疗提供了途径。该文阐述了Maspin的结构、功能及其在口腔鳞癌中的研究进展。

[关键词] Maspin; 口腔鳞癌; 抑瘤作用

[中图分类号] R739.81 [文献标识码] A [文章编号] 1003-9872(2009)12-0658-03

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma OSCC)是头颈部常见的恶性肿瘤之一,其生存率在60%以下^[1]。乳腺丝氨酸蛋白酶抑制剂基因(marray serineproteinase inhibitor Maspin)是1994年由Zon等^[2]发现的一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,是一种潜在的肿瘤抑制基因。研究表明:Maspin基因可通过抑制细胞运动、抑制血管生成、促进细胞凋亡以及和p53相互作用来发挥抑瘤作用^[3],对Maspin的检测可用于口腔鳞癌发生和发展的预测和评估。

1 Maspin基因的定位和结构特点

Maspin蛋白属于丝氨酸蛋白酶抑制剂(serp)超家族、卵清蛋白(ovalbumin)亚族,与其他serpin有30% - 40%的同源性。Maspin蛋白主要定位于细胞质,也可定位于细胞表面及细胞核内^[4]。Maspin基因是常染色体基因,位于18q21.3 - q23上,由7个外显子和4个内含子组成,dNA序列全长2584 bp,其中5'端核苷酸75个,无转录功能的3'端核苷酸1381个,C-端附近有一个活性位点环(reactive site loop RSL),被认为是主要的反应活性部位;N-端上的P1残端具有识别靶蛋白和结合胶原的作用;启动子区域存在一个p53结合位点,p53基因可直接结合到该位点对Maspin基因的启动子进行调节,从而控制其mRNA的表达;活性中心的-NH2端有一绞链区(hinge region)^[5]。Maspin基因编码一个分子质量为42 ku的蛋白质,该蛋白质由375个氨基酸组成,其中内部尚有8个半胱氨酸残基。这些残基可形成2个或2个以上的二硫键,对Maspin蛋白的特异三维结构具有稳定作用^[6]。

2 Maspin基因抑制肿瘤的作用及可能机制

近年来,越来越多的证据表明,Maspin基因在肿瘤的发生、发展中起重要的作用,其表达的缺失可用于肿瘤远处转

移和患者预后不良的预测。Maspin基因具有调节细胞浸润、增加细胞的黏附力、降低细胞的运动能力的功能,而且能够抑制肿瘤细胞的生长,诱导其凋亡,抑制肿瘤新生血管的生成等,是具有抑癌基因性质的丝氨酸蛋白酶抑制剂基因^[7-10]。

2.1 抑制血管生成

肿瘤生长和转移都依赖于新生血管的形成^[11],肿瘤血管生成受多种因素的调控,其中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor VEGF)是主要的正向调节因子之一。体外实验研究表明Maspin基因可直接作用于纤维母细胞生长因子和血管内皮生长因子,阻断细胞的有丝分裂和管道的形成,抑制培养的内皮细胞向基质的转移,从而抑制血管的生长,影响肿瘤的发生和发展。研究还发现Maspin基因中活性位点环的变异会使其丧失对纤维原细胞、角化细胞和乳腺癌细胞的转移抑制能力,但并不影响它对新生血管生成的抑制,提示Maspin的肿瘤抑制活性可能主要依赖其对新生血管生成的抑制能力^[12]。

2.2 促进细胞凋亡

Lu等^[13]研究发现,Maspin可以通过Bax(Bcl-2 associated X protein)介导的细胞凋亡抑制肿瘤的生长,在转染Maspin基因的乳腺癌和前列腺癌细胞中Bax的表达上调,而在使用针对Bax的siRNA(small interfering RNA)处理后,Maspin转染细胞对药物诱导的凋亡表现出抵抗,Maspin可以作为凋亡机制治疗的修饰基因。另有研究还发现,内皮细胞中一氧化氮(NO)的合成与Maspin基因相关,并证实NO能诱导Maspin的表达从而降低细胞的运动和侵袭能力,并增加细胞的凋亡^[14]。

2.3 增加细胞黏附,阻断细胞的浸润和运动

Maspin可以通过调解G蛋白Rac1和Pak1(p21-活性激酶)的活性来抑制细胞的运动,通过磷酸肌醇-3激酶(P13K)和细胞外信号调节激酶(ERK)途径来调节细胞的黏附^[15]。另有研究发现RSL介导Maspin结合于细胞表面,同时该区域也是Maspin与丝氨酸蛋白酶结合的活性位点,通过对丝氨酸蛋白酶的抑制诱导细胞与胞外基质的黏附而抑制细胞的侵袭;另外位于细胞表面的Maspin还可直接与胞

作者单位:1浙江省台州市中心医院口腔科,台州(318000);2上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔颌面外科,上海(200011)

通信作者:季彤 Tel (021) 63138341-5160

E-mail jibong70@hotmail.com

外基质的 I 型和 III 型胶原蛋白结合并相互作用,增加细胞的黏附作用,减低细胞运动能力和血管生成^[16]。

2.4 抑制纤维蛋白溶酶原激活物

研究证实内源性 Maspin 是细胞尿激酶型纤溶蛋白酶原激活剂 (uPA) 的强抑制剂, uPA 是一种丝氨酸蛋白酶同时也是纤溶系统的重要组成部分,它通过与细胞表面的 uPA 受体结合,促进细胞的分裂和迁移, Maspin 可以抑制细胞周围 uPA 对蛋白水解和细胞运动的调节作用而阻断细胞的浸润和运动^[17]。Cher 等^[18]认为, Maspin 能够通过抑制前列腺癌相关的 uPA 的激活,在体外抑制前列腺癌细胞的运动和侵袭。Sheng 等^[19]发现重组 Maspin 能够和单链组织型纤维蛋白溶解酶原激活物 (scfPA) 结合,抑制组织型纤维蛋白溶解酶原激活物 (Tpa) 的活性。

2.5 与 p53 的协同作用

研究发现 Maspin 蛋白与野生型 p53 蛋白的表达呈明显的正相关^[8]。野生型 p53 (wt p53) 结合到 Maspin 启动子的 p53 结合位点后能刺激组蛋白的乙酰化,增加启动区染色质的可进入性,并通过影响 Maspin 的甲基化抑制屏障而激活 Maspin 的启动子^[20],并增加转录活性,使癌细胞中 Maspin mRNA 的含量增加且转录速度加快^[5]。研究还发现在大多肿瘤中 Maspin 的表达与突变型 p53 的表达水平呈反向相关,提示 Maspin 可能是体内 p53 作用的靶基因^[16]。

3 Maspin 在口腔鳞癌中的表达及其临床意义

Maspin 基因是 1994 年 Zon 等^[2]使用消减杂交 (subtractive hybridization) 的方法在对正常乳腺组织和乳腺癌组织进行比较时发现的,并且发现用该基因转染乳腺癌细胞系 MDA-MB-2435 后,可降低癌细胞在裸鼠体内的成瘤能力,降低其穿透基膜及转移的能力。之后研究不断发现 Maspin 在乳腺^[8]、前列腺^[6]、角膜^[21]、卵巢^[22]、胃^[23]等人体器官组织中有高水平表达,而在相应的恶性肿瘤中表达下调或不表达,提示 Maspin 可以作为肿瘤转移及预后评估的一个重要指标。目前 Maspin 在口腔癌中表达的研究较少,主要局限于鳞癌方面。

3.1 口腔鳞状细胞癌

口腔鳞状细胞癌占口腔颌面部恶性肿瘤的 80%^[24],其淋巴结转移常见,术前若能较准确地预测淋巴结有无转移,对于手术方案的制定具有十分重要的意义。目前临床上判断口腔癌治疗前淋巴结转移成熟、客观的手段还不多,根据临床经验进行判断的情况还比较多见, Maspin 的检测可提供一定的参考价值。Xia 等^[25]用免疫组化的方法检测了 44 例口腔鳞癌患者,对照正常牙龈黏膜,并且术后进行了长达 6 年的随访,结果 66% (29/44) 呈低、中度表达, 34% (15/44) 呈高表达,正常牙龈黏膜均为高表达,低、中表达者与淋巴结转移密切相关 ($P = 0.009$),高表达者无一淋巴结转移,提示对 Maspin 的检测可预测口腔癌淋巴结的转移;对术后随访资料分析表明高表达患者的预后好于低中度表达 ($P = 0.017$),提示 Maspin 有抑制口腔鳞癌的作用,但 Maspin 的低表达与口腔癌的远处转移无相关性,可能是因为 Maspin

虽然具备抑制肿瘤细胞浸润及运动的特性,但这只是肿瘤远处转移的复杂机制中的初级阶段。Yasumatsu 等^[9]用免疫组化方法检测 I 期和 II 期口腔鳞状细胞癌患者,临床随访数据显示 Maspin 阳性病例无病生存期和存活期优于 Maspin 阴性病例 ($P = 0.01$),且 Maspin 的失表达多出现于继发颈淋巴结转移组 ($P = 0.03$),提示 Maspin 表达的缺失或降低是 I 期和 II 期口腔鳞状细胞癌具有转移潜能的有意义的预报指标。Iezz 等^[26]对 89 例口腔鳞状细胞癌标本行免疫组化检测,发现 Maspin 表达与口腔鳞癌病理分级 ($P = 0.0318$) 和淋巴结转移 ($P < 0.05$) 明显相关, Maspin 表达越高,分化程度越高,淋巴结转移发生率越低。但另有研究表明, Maspin 基因表达与口腔鳞癌病理分级和临床分期无关 ($P > 0.05$),而与淋巴结转移有关 ($P < 0.05$),提示无论肿瘤是早期还是晚期, Maspin 基因在口腔鳞癌中的表达均无显著差异^[27]。因此,在肿瘤患者早期对癌组织行该基因的表达水平检测,将有助于对患者淋巴结转移倾向的评估。近年来,对 Maspin 的研究深入至亚细胞方面, Marion 等^[28]对 56 例口腔鳞状细胞癌行 Maspin 的免疫组化染色,结果显示 Maspin 在口腔鳞状细胞癌细胞的细胞核和细胞质中均有表达,统计分析发现细胞质中 Maspin 的表达与淋巴结转移呈明显负相关 ($P = 0.032$),提示口腔鳞癌中细胞质的 Maspin 表达是预测颈部淋巴结转移的有意义的指标。但是,在喉癌^[29]和肺癌^[30]中的研究表明细胞核的 Maspin 高表达预示着低复发和良好的预后。在口腔鳞癌中 Maspin 的亚细胞表达还有待进一步研究。

3.2 口腔疣状癌

口腔疣状癌 (oral verrucous carcinoma OVC) 是口腔鳞状细胞癌的一种特殊类型,不同于口腔鳞癌,是具有独立生物学行为和自身不同临床类型的恶性肿瘤^[31]。它生长缓慢、局部侵袭,被认为是一种分化程度高,预后较好的恶性肿瘤^[32-33]。Maspin 在其中的研究证实了这一观点。唐瞻贵等^[34]取口腔疣状癌患者 (6 例) 的癌、癌旁及正常口腔黏膜行 Maspin RT-PCR; 取口腔疣状癌 (15 例) 石蜡标本作 Maspin 免疫组化研究,并与口腔鳞癌作对比,研究表明: Maspin 基因 mRNA 在正常口腔黏膜、癌旁、癌组织表达逐渐减少,而癌和癌旁、癌旁和正常黏膜间差异无统计学意义;疣状癌 Maspin 蛋白平均染色强度低于正常口腔黏膜组,说明 Maspin 基因在疣状癌的发生发展中起一定的抑癌作用;疣状癌中 Maspin 基因 mRNA 表达高于口腔鳞癌,且蛋白平均染色强度高于口腔鳞癌,更高于淋巴结转移癌,说明该基因在疣状癌的发生发展中抑癌功能虽有部分丧失,但丧失程度较鳞癌少,这为解释临床上多数疣状癌生物学行为较好,但仍有部分疣状癌不断发展乃至侵袭、转移提供一定的理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] Neville BW, Day TA. Oral cancer and precancerous lesions [J]. CA Cancer J Clin 2002, 52(4): 195-215.
- [2] Zou Z, Anisowicz A, Hendrik MJ *et al*. Maspin, a serpin with tumor suppressing activity in human mammary epithelial cells

- [J]. *Science* 1994 263(5146): 526- 529.
- [3] Dokras A, Gardner IM, Kirschmann DA. The tumour suppressor gene maspin is differentially regulated in cytotrophoblasts during human placental development[J]. *Placenta* 2002 23(4): 274- 280
- [4] Blacque OE, Worrall DM. Evidence for a direct interaction between the tumour suppressor serpin, maspin, and types I and III collagen[J]. *J Biol Chem*, 2002 277(13): 10783- 10788
- [5] Zou Z, Gao C, Nagarsh AK, *et al* p53 regulates the expression of the tumour suppressor gene maspin[J]. *J Bio-Chem*, 2000 275(9): 6051- 6054
- [6] Sheng S, Carey J, Sefor EA, *et al* Maspin acts at the cell membrane to inhibit invasion and motility of mammary and prostatic cancer cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996 93(21): 11669- 11674.
- [7] Shi HY, Zhang W, Liang R, *et al* Modeling human breast cancer metastasis in mice maspin as a paradigm[J]. *Histol Histopathol* 2003 18(1): 201- 206
- [8] Umekita Y, Ohi Y, Sagara Y, *et al* Expression of maspin predicts poor prognosis in breast cancer patients[J]. *Int J Cancer* 2002, 100(4): 452- 455.
- [9] Yasumatsu R, Nakashin A, Hirakawa N, *et al* Maspin expression in stage I and II oral tongue squamous cell carcinoma[J]. *Head Neck*, 2001, 23(11): 962- 966
- [10] Lonardo F, Li X, Siddiq F, *et al* Maspin nuclear localization is linked to favorable morphological features in pulmonary adenocarcinoma[J]. *Lung Cancer* 2006, 51(1): 31- 39
- [11] Folkman J. Tumour angiogenesis: therapeutic implications[J]. *N Engl J Med*, 1971, 285(21): 1182- 1186
- [12] Zhang M, Volpert O, Shi YH, *et al* Maspin is an angiogenesis inhibitor[J]. *Nat Med*, 2000 6(2): 196- 199.
- [13] Liu J, Yin S, Reddy N, *et al* Bax mediates the apoptosis sensitizing effect of maspin[J]. *Cancer Res* 2004 64(5): 1703- 1711.
- [14] Khalkhali Ellis Z, Hendrik M, Nitric oxide regulation of maspin expression in normal mammary epithelial and breast cancer cells [J]. *Am J Pathol* 2003 162(5): 1411- 1417
- [15] OdehMaradh VA, Khalkhali-Ellis Z, Chunthapong J *et al* Maspin regulates different signaling pathways for motility and adhesion in aggressive breast cancer[J]. *Cell Cancer Biol Ther* 2003 2(4): 398- 403
- [16] Zhang W, Zhang M. Tissue microarray analysis of maspin expression and its reverse correlation with mutant p53 in various tumors [J]. *Int J Oncol* 2002 20(6): 1145- 1150.
- [17] Biliran HR Jr, Sheng S. Pleiotropic inhibition of pericellular urokinase type plasminogen activator system by endogenous tumour suppressive maspin[J]. *Cancer Res* 2001, 61(24): 8676- 8682
- [18] Cher ML, Biliran HR Jr, Bhagat S, *et al* Maspin expression inhibits osteolysis, tumour growth, and angiogenesis in a model of prostate cancer bone metastasis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003 100(13): 7847- 7852
- [19] Sheng S, Truong B, Fredrickson D, *et al* Tissue-type plasminogen activator is a target of the tumour suppressor gene maspin[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998 95(2): 499- 504.
- [20] Oshiro MM, Watts GS, Wozniak R J *et al* Mutant p53 and aberrant cytosine methylation cooperate to silence gene expression[J]. *Oncogene* 2003, 22(23): 3624- 3634.
- [21] Ngamkitilachakul C, Burke JM, O'Brien W J *et al* Maspin synthesis by human cornea and regulation of in vitro stromal cell adhesion to extracellular matrix[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001, 42(13): 3135- 3141
- [22] Abd Elwahed MM. Expression and subcellular localization of maspin in human ovarian epithelial neoplasms: correlation with clinicopathologic features[J]. *J Egypt Natl Canc Inst* 2005 17(3): 173- 83.
- [23] Son H J, Sohn TS, Song SY, *et al* Maspin expression in human gastric adenocarcinoma[J]. *Pathol Int* 2002, 52(8): 508- 513.
- [24] 邱蔚六. 口腔颌面外科学 [M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 266
- [25] Xia W, Lau YK, Hu MC, *et al* High tumoral maspin expression is associated with improved survival of patients with oral squamous cell carcinoma[J]. *Oncogene* 2000 19(20): 2398- 2403
- [26] Iezzi G, Piattelli A, Rubini C, *et al* Maspin expression in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Craniofac Surg* 2007 18(5): 1039- 1043
- [27] 张雷, 唐瞻贵, 周正国, 等. 口腔鳞癌中 Maspin 和 VEGF 基因的表达及意义 [J]. *上海口腔医学*, 2005, 14(6): 557- 560
- [28] Marion G, Gao E, Giacomelli L, *et al* MASPIN subcellular localization and expression in oral cavity squamous cell carcinoma[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008 265(1): 97- 104.
- [29] Marion G, Blandamura S, Giacomelli L, *et al* Nuclear expression of maspin is associated with a lower recurrence rate and a longer disease-free interval after surgery for squamous cell carcinoma of the larynx[J]. *Histolopathology* 2005 46(5): 576- 582
- [30] Lonardo F, Li X, Siddiq F, *et al* Maspin nuclear localization is linked to favorable morphological features in pulmonary adenocarcinoma[J]. *Lung Cancer* 2006, 51(1): 31- 39
- [31] Sakurai K, Urade M, Takahashi Y, *et al* Increased expression of c-erbB-3 protein and proliferating cell nuclear antigen during development of verrucous carcinoma of the oral mucosa [J]. *Cancer* 2000, 89(12): 2597- 2605.
- [32] Spiro RH. Verrucous carcinoma, then and now [J]. *Am J Surg* 1998, 176(5): 393- 397.
- [33] Bouquot JE. Oral verrucous carcinoma: incidence in two US populations [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998, 86(3): 318- 324
- [34] 唐瞻贵, 张雷, 全向娟, 等. 口腔疣状癌 maspin 基因表达研究 [J]. *中华口腔医学杂志*, 2005, 40(6): 279.

(收稿日期: 2008- 10- 06)