

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0124

• 综述 •

SPARC在胃癌发生机制中作用的研究进展

马永琛, 陈国卫, 刘玉村

Research Progress on SPARC in Pathogenesis of Gastric Cancer

MA Yongchen, CHEN Guowei, LIU Yucun

*Department of General Surgery, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China**Corresponding Author: LIU Yucun, E-mail: yucunliu@bjmu.edu.cn*

Abstract: As one of extracellular glycoproteins, secreted protein, acidic and rich in cysteine (SPARC) can regulate the interaction between cells and matrix. SPARC, which is tissue-specific plays an important role in the development of many malignant neoplasms, which is tissue-specific. In gastric tissues, SPARC is expressed in carcinoma tissues at a higher level compared with normal mucosa tissues, and mainly located at stromal cells; while in most gastric cancer cells, endogenous SPARC expression is at a low level or even absent. SPARC may negatively modulate several biological behaviors of gastric cancer, such as invasion, metastasis and angiogenesis, but the effect on the proliferation is still controversial. The methylation of SPARC promoter commonly exists in gastric cancer. This review aims to summarize the mechanism of interaction between SPARC and gastric cancer and to explore a new way to early diagnose and treat gastric cancer timely.

Key words: SPARC; Gastric cancer; Invasion; Metastasis; Angiogenesis; Methylation

摘要: 富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白 (secreted protein, acidic and rich in cysteine, SPARC) 作为一种细胞外基质糖蛋白, 能够调节细胞和基质之间的相互作用, 与多种恶性肿瘤的发生发展相关, 且具有组织特异性。SPARC在胃癌组织中的表达, 高于正常胃黏膜组织且主要定位于胃癌间质细胞; 而在大多数胃癌细胞系中, 内源性SPARC呈现表达抑制或缺失状态。SPARC对胃癌的侵袭、转移、血管新生等存在负性调节的作用, 而对于增殖的影响目前尚无一致性结论。此外, SPARC启动子CpG岛甲基化在胃癌中较普遍。本文对SPARC在胃癌多种生物学行为方面的作用机制进行综述, 旨在总结SPARC在胃癌发生发展中的作用, 为胃癌早期诊断和靶向治疗提供新思路。

关键词: SPARC; 胃癌; 侵袭; 转移; 血管生成; 甲基化

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A

0 引言

富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白 (secreted protein, acidic and rich in cysteine, SPARC), 是一种32 kDa细胞外基质糖蛋白, 也曾称为骨连接蛋白、43K蛋白或BM-40, 最早由美国Terminé等人于1981年在人和胎牛骨中分离提纯^[1]。起初的认识仅仅限于它是一种能与钙离子结合的非胶原成分。随后的研究逐渐发现, SPARC在人体中广泛分布, 尤其是载体的构建组织中, 其生物学行为随着环境不同也呈现出不同的特性。人类的SPARC基因位于5q31-33, 是一种在进化上高度保守的单拷贝基因, 编码由298~304个氨基酸构成的蛋白质。SPARC蛋白主要包括三个结构和功能不

同的模块, 分别具有抗原决定、抑制内皮细胞增殖和血管形成以及去细胞黏附等功能特性^[2]。因此, 不同于其他细胞基质蛋白, SPARC的主要功能在于调节细胞和基质之间的相互作用, 参与组织修复、血管新生、细胞迁移等多个过程。近年来随着研究深入, 人们发现SPARC与多种恶性肿瘤有十分密切的联系。肿瘤类型不同、微环境不同, SPARC在肿瘤形成进程中所起的作用也不尽相同。目前研究较多的恶性肿瘤主要有恶性黑色素瘤、卵巢癌、结肠癌、胰腺癌、前列腺癌等, 而在胃癌中的研究仍处于起步阶段^[3-4]。现就当前SPARC在胃癌中的研究进展进行综述。

1 SPARC在胃癌中的表达情况

目前针对SPARC的检测主要围绕核酸和蛋白水平, 方法有反转录聚合酶链式反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)、蛋白免疫印迹法 (Western blot) 和免疫组织化学

收稿日期: 2017-02-09; 修回日期: 2017-03-25

作者单位: 100034 北京, 北京大学第一医院普外科

通信作者: 刘玉村, E-mail: yucunliu@bjmu.edu.cn

作者简介: 马永琛 (1990-), 男, 博士在读, 主要从事消化道肿瘤的研究

法 (immunohistochemistry, IHC) 等^[5]。肿瘤类型不同, SPARC表达情况也不一致。在恶性黑色素瘤中, SPARC随肿瘤的进展而表达增加; 结肠癌中, SPARC主要表达于结肠癌组织周围的间质细胞, 而在结肠癌细胞中表达较正常组织低; 胰腺癌、肺癌及食管鳞癌中同样出现间质过表达而肿瘤低表达的现象; 而在卵巢癌中, SPARC出现低表达^[4,6-9]。在胃癌组织和常用的几种胃癌细胞系中, SPARC的表达呈现多样性。

Sato等^[10]用RT-PCR的方法检测227名胃癌患者的癌与癌旁组织SPARC mRNA的表达情况, 发现癌组织中SPARC表达明显高于癌旁正常组织。Wang等^[11]通过对手术切除的80例胃癌以及30例正常癌旁组织IHC检测发现, SPARC高表达于胃癌细胞周围间质中, 而癌细胞本身及正常胃黏膜细胞表达较低。SPARC的表达与肿瘤TNM分期以及局部淋巴结转移情况呈负相关; Lauren分型中, 肠型胃癌的SPARC表达强于弥漫型胃癌; 而性别、年龄、肿瘤大小、分化程度等与SPARC表达无明显相关性^[12-13]。在常用的胃癌细胞系中, 内源性SPARC mRNA仅在MGC-803和HGC-27两种胃癌细胞系呈现高表达, SGC-7901细胞系表达水平较低, 而在NCI-N87、BGC-823、AGS、MKN-45、KATO III、SUN-1以及SUN-16细胞系中均表达缺失, 正常胃上皮细胞系GES中可见表达^[14-15]。由此可见, 胃癌组织中SPARC的表达高于正常胃黏膜组织, 且主要表达于胃癌间质细胞; 而在大多数胃癌细胞系中, 内源性SPARC呈现表达抑制或缺失状态, 在蛋白水平上也印证了此结论。癌巢间质细胞的SPARC异常表达在多种恶性肿瘤中均见报道, 进一步研究有助于揭示SPARC在肿瘤微环境中的相关作用机制, 见表1。

表1 SPARC在常见实体恶性肿瘤中的表达情况

Table1 SPARC expression in common malignant tumors

Tumor	Expression	Reference	Year
Malignant melanoma	H	Salvatierra E ^[4]	2015
Nasopharyngeal carcinoma	H	Wang HY ^[16]	2012
Colorectal cancer	H(S)/L(C)	Cao SQ ^[6]	2014
Pancreatic cancer	H(S)	Vaz J ^[2]	2015
Lung cancer	H(S)/L(C)	Zheng YJ ^[7]	2014
Esophageal squamous cell carcinoma	H(S)	Huang HB ^[8]	2016
Ovarian cancer	L	Matthews DP ^[9]	2014
Breast cancer	H	Lindner JL ^[17]	2015
Prostate cancer	D	Ribeiro N ^[18]	2016

Notes: SPARC: Secreted protein, acidic and rich in cysteine; H: high; L: low; S: stroma; C: cancer cell; D: differential

2 SPARC与胃癌发生发展的关系

已有的研究表明, SPARC蛋白在肿瘤进展的多个环节都发挥了一定作用, 且存在组织特异性。对胃癌的研究主要集中在以下几个方面。

2.1 SPARC与胃癌细胞增殖

SPARC对胃癌细胞的增殖作用目前尚无一致性的结论。Yin等^[14]利用siRNA对SPARC高表达的MGC-803和HGC-27两种细胞进行SPARC干扰抑制后, 发现相对于对照组, SPARC抑制组的胃癌细胞增殖和存活能力明显下降。随后的裸鼠体内成瘤实验也证实了这一观点^[19]。然而, Zhang等^[20]对SPARC表达缺失的胃癌细胞系BGC-823进行SPARC cDNA转染后发现, 过表达SPARC的BGC细胞相比于对照组生长明显受限; 而对HGC-27进行shRNA干扰SPARC后出现细胞增殖能力轻度升高。对于出现的不一致现象, 笔者推测可能与细胞系的异质性及转染载体来源、实验条件、技术手段等多种因素相关, 未来有待于多细胞系重复以及体内实验进一步验证。

SPARC对胃癌增殖的作用机制目前研究较少。已有的研究发现, 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 可能参与癌细胞增殖的过程。胃癌细胞过表达SPARC后可能干扰VEGF与VEGF受体2 (VEGF-2) 结合, 抑制受体及其下游的ERK1/2激活, 细胞周期停滞于G₀/G₁期, 从而减弱癌细胞的增殖能力^[11]。一项对前列腺癌的研究显示, 在前列腺癌细胞中加入外源性SPARC可以引起整合素β1的增加并使AKT磷酸化水平降低, 推测SPARC可能通过此种途径抑制癌细胞的增殖; 相反SPARC的缺失能够促进癌细胞的生长^[21]。另有对胰腺癌的研究发现, 外源性的SPARC可使成纤维细胞生长因子1 (fibroblast growth factor-1, FGF-1) 介导的增殖作用减弱^[22]。SPARC对恶性肿瘤增殖的作用可能是多因素、多通路共同参与的, 综合效应网络的构建应是未来研究的新思路。

2.2 SPARC与胃癌侵袭、转移

恶性肿瘤的侵袭、转移能力主要与肿瘤本身的增殖活性及肿瘤细胞微环境相关, 其中比较重要的一个机制是上皮-间充质细胞转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)。肿瘤增殖能力活跃, 肿瘤细胞间黏附作用减弱以及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的降解都是肿瘤发生侵袭和转移的重要环节。研究发现, 在SPARC低表达的BGC-823和SGC-7901胃癌细胞系中过表

达SPARC后可使癌细胞的侵袭和迁移能力明显降低；此外，在尾静脉注射胃癌细胞的裸鼠肺组织活检发现，SPARC过表达组中肺组织转移细胞数和转移灶数目都明显下降^[12]。进一步的机制研究发现，SPARC过表达会引起胃癌细胞MMP-7、MMP-9、N-cadherin、Sp1分子的表达以及ERK1/2的激活受到抑制，这些分子均是EMT过程中的重要因子，表达受到抑制后，肿瘤的侵袭及转移能力也会受限。可见SPARC对胃癌的侵袭、转移可能存在负性调节的作用。

然而，对不同种属、不同组织的研究发现SPARC在侵袭、转移方面的作用有差异。一项对秀丽隐杆线虫（*C. elegans*）的研究发现，线虫体内过表达SPARC后，侵袭力较弱的锚细胞突破基底膜的能力显著增加，其部分原因是SPARC能够与ECM基底膜的重要组分IV型胶原结合，干扰其在基底膜的沉积，从而削弱基底膜的屏障功能，且这种功能是相对独立的^[23]。而较早的研究也认为，SPARC的表达在多种恶性肿瘤中与MMP及整合素的信号表达成正相关，能够促进基底膜打破，提高恶性细胞的侵袭能力^[24-25]。侵袭和转移是细胞自身与微环境相互作用、共同参与的过程，存在多因素之间的相互促进和制衡，SPARC在胃癌中侵袭和转移的作用机制仍需进一步探讨。

2.3 SPARC与肿瘤微血管的形成

肿瘤的发生和转移扩散与血管形成关系密切，新生血管为肿瘤提供营养，对肿瘤的生长至关重要。而肿瘤微血管的形成由多种因子共同调控，如VEGF、血小板源性生长因子（platelet derived growth factor, PDGF）、FGF、转化生长因子 β （transforming growth factor- β , TGF- β ）、基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinases, MMP）等。SPARC能够与多种生长因子相互作用，在不同微环境中，SPARC对恶性肿瘤血管形成的作用也不尽相同。PDGF能够促进有丝分裂，引起内皮细胞增殖。SPARC可以特异性地与PDGF结合，抑制其与PDGF受体相互作用或间接干扰PDGF通路，从而抑制血管内皮细胞增殖。VEGF与PDGF在氨基酸序列上有20%的相似性。SPARC可以和VEGF结合，抑制其对VEGF受体1（VEGFR1）的磷酸化激活作用，从而减弱VEGF对人微血管内皮细胞的促增殖作用。FGF-2作为血管新生过程中的另一重要因子，也受到SPARC蛋白类似的调控，此外，SPARC还可降低FGF受体1（FGFR1）的磷酸化水平。

Zhang等^[20]发现，过表达SPARC的胃癌细胞中

VEGF和MMP-7水平降低，在体内成瘤实验中发现种植过表达SPARC胃癌细胞的裸鼠相比对照组肿瘤体积较小，肿瘤组织VEGF和MMP-7表达水平降低，微血管密度（microvascular density, MVD）相比对照组下降54.8%，认为SPARC可能通过调节VEGF和MMP-7抑制血管新生。

2.4 SPARC甲基化与胃癌

在肿瘤发展的进程中，原癌基因激活和抑癌基因失活扮演着重要角色。近年来，表观遗传学的改变如甲基化带来的抑癌基因失活问题逐渐受到关注^[26-27]。DNA的甲基化主要发生于CpG二核苷酸聚集的CpG岛中。而在人类基因启动子中，约有70%的序列存在CpG岛，启动子在DNA甲基转移酶（DNA methyltransferase, DNMT）的作用下异常甲基化将导致基因沉默，抑癌基因的沉默成为导致肿瘤发生的重要环节^[28]。研究发现，胃癌中许多抑癌基因启动子均存在不同程度的甲基化，如hMLM1、CDH1、COX-2、RUNX3、TIMP-3、RASSF以及SOX2等^[29]。DNA核心启动子的甲基化能够影响SPARC表达^[30]。Chen等^[15]对10个常用胃癌细胞系进行检测发现，8个存在SPARC启动子异常甲基化，而其中7个呈现SPARC表达缺失；在经过甲基化试剂5-氮杂-2'-脱氧胞嘧啶核苷处理后，所有的细胞系SPARC都恢复了表达，且在多个细胞系中发现胃癌细胞的增殖、迁移能力都有所下降。在220例胃癌组织中检测发现，甲基化发生率高达74%，而正常胃黏膜组织甲基化发生率仅为5%。SPARC甲基化在胃癌中的发生率较高，而启动子的甲基化导致胃癌细胞中SPARC表达沉默，其功能受到抑制。

此外，甲基化对肿瘤辅助治疗的影响也成为当今学术热点。有研究发现，在结直肠癌中SPARC甲基化可能造成肿瘤对化疗的敏感度降低，影响患者总体生存率^[31]。SPARC甲基化的现象为胃癌预后分析以及治疗靶点的选择提供了新的方向。

3 总结与展望

SPARC作为一种细胞外基质糖蛋白，能够通过多种途径调节细胞和周围基质之间的相互作用，对多种恶性肿瘤的发生发展进程产生影响，且具有较高的组织特异性。在胃癌中，目前研究发现，SPARC主要表达于癌组织的间质细胞中，癌细胞本身表达较少，可能与SPARC基因启动子甲基化等因素相关。SPARC表达的缺失对胃癌细胞的侵袭、转移、血管新生等多种生物学行为都产

生负性调节作用，对增殖方面的影响目前仍存在争议；而胃癌间质细胞中SPARC的异常表达对于肿瘤进程的意义目前仍是未知。未来的研究应着眼于SPARC在微环境中作用机制的进一步探索以及SPARC对胃癌影响的综合效应网络构建，以期对胃癌发生机制的研究及靶向治疗提供新思路。

参考文献:

- [1] Termine JD, Kleinman HK, Whitson SW, *et al.* Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen[J]. Cell, 1981, 26(1 Pt 1): 99.
- [2] Vaz J, Ansari D, Sasor A, *et al.* SPARC: A Potential Prognostic and Therapeutic Target in Pancreatic Cancer[J]. Pancreas, 2015, 44(7): 1024-35.
- [3] Rossi MK, Gnanamony M, Gondi CS. The ‘SPARC’ of life: Analysis of the role of osteonectin/SPARC in pancreatic cancer (Review)[J]. Int J Oncol, 2016, 48(5): 1765-71.
- [4] Salvatierra E, Alvarez MJ, Leishman CC, *et al.* SPARC Controls Melanoma Cell Plasticity through Rac1[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0134714.
- [5] Sinn M, Sinn BV, Striefler JK. SPARC expression in resected pancreatic cancer patients treated with gemcitabine: results from the CONKO-001 study[J]. Ann Oncol, 2014, 25(5): 1025-32.
- [6] 曹仕琼, 吴杰. 富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白在人大肠癌、大肠腺瘤的表达及其临床意义[J]. 临床消化病杂志, 2014, 26(1): 15-8. [Cao SQ, WU J. Relationship between expression of SPARC and its clinical significance in human colorectal carcinoma and colorectal adenoma[J]. Lin Chuang Xiao Hua Bing Za Zhi, 2014, 26(1): 15-8.]
- [7] 郑英娟, 汤建华, 张志林, 等. 肺癌中SPARC和TGFβ1的表达及意义[J]. 肿瘤防治研究, 2014, 41(6): 593-7. [Zheng YJ, Tang JH, Zhang ZL, *et al.* Significance of SPARC and TGFβ1 expression in lung cancer[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2014, 41(6): 596-7.]
- [8] 黄海波, 刘凯, 赵燕, 等. 酸性富含半胱氨酸分泌型蛋白表达与食管鳞癌术后预后相关性[J]. 肿瘤防治研究, 2016, 43(1): 35-8. [Huang HB, Liu K, Zhao Y, *et al.* Relationship of secreted protein acidic and rich in cysteine protein expression with prognosis of postoperative patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2016, 43(1): 35-8.]
- [9] Matthews DP, Taylor S, Said NA. Epigenetic regulation of SPARC in ovarian cancer [J]. Cancer Res, 2014, 74(19 Suppl): 1364.
- [10] Sato T, Oshima T, Yamamoto N, *et al.* Clinical significance of SPARC gene expression in patients with gastric cancer[J]. J Surg Oncol, 2013, 108(6): 364-8.
- [11] Wang L, Yang M, Shan L, *et al.* The role of SPARC protein expression in the progress of gastric cancer [J]. Pathol Oncol Res, 2012, 18(3): 697-702.
- [12] Zhang J, Wang P, Zhu J, *et al.* SPARC expression is negatively correlated with clinicopathological factors of gastric cancer and inhibits malignancy of gastric cancer cells[J]. Oncol Rep, 2014, 31(5): 2312-20.
- [13] Franke K, Carl-Mcgrath S, Röhl FW, *et al.* Differential Expression of SPARC in Intestinal-type Gastric Cancer Correlates with Tumor Progression and Nodal Spread[J]. Transl Oncol, 2009, 2(4): 310-20.
- [14] Yin J, Chen G, Liu Y, *et al.* Downregulation of SPARC expression decreases gastric cancer cellular invasion and survival[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2010, 29: 59.
- [15] Chen ZY, Zhang JL, Yao HX, *et al.* Aberrant methylation of the SPARC gene promoter and its clinical implication in gastric cancer[J]. Sci Rep, 2014, 4: 7035.
- [16] Wang HY, Li YY, Shao Q, *et al.* Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) is associated with nasopharyngeal carcinoma metastasis and poor prognosis[J]. J Transl Med, 2012, 10: 27.
- [17] Lindner JL, Loibl S, Denkert C, *et al.* Expression of secreted protein acidic and rich in cysteine (sparc) in breast cancer and response to neoadjuvant chemotherapy[J]. Ann Oncol, 2015, 26(1): 95-100.
- [18] Ribeiro N, Costapineiro P, Henrique R, *et al.* Comprehensive Analysis of Secreted Protein, Acidic and Rich in Cysteine in Prostate Carcinogenesis: Development of a 3D Nanostructured Bone-Like Model[J]. J Biomed Nanotechnol, 2016, 12(8): 1-12.
- [19] 尹杰, 陈国卫, 刘斯, 等. SPARC对胃癌细胞系HGC27体内侵袭能力及MMP-2表达的影响[J]. 中国医药导刊, 2010, 12(8): 1387-8. [Yin J, Chen GW, Liu S, *et al.* The Role of SPARC in the Invasion of Gastric Cancer in Vivo and Its Relationship with Metalloproteinase[J]. Zhongguo Yi Yao Dao Kan, 2010, 12(8): 1387-8.]
- [20] Zhang JL, Chen GW, Liu YC, *et al.* Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) suppresses angiogenesis by down-regulating the expression of VEGF and MMP-7 in gastric cancer[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44618.
- [21] Shin M, Mizokami A, Kim J, *et al.* Exogenous SPARC suppresses proliferation and migration of prostate cancer by interacting with integrin β1[J]. Prostate, 2013, 73(11): 1159-70.
- [22] Chen G, Tian X, Liu Z, *et al.* Inhibition of endogenous SPARC enhances pancreatic cancer cell growth: modulation by FGFR1-III isoform expression[J]. Br J Cancer, 2009, 102(1): 188-95.
- [23] Morrissey MA, Jayadev R, Miley GR, *et al.* SPARC Promotes Cell Invasion In Vivo by Decreasing Type IV Collagen Levels in the Basement Membrane[J]. PLoS Genet, 2016, 12(2): e1005905.
- [24] Mcclung HM, Thomas SL, Osenkowski P, *et al.* SPARC upregulates MT1-MMP expression, MMP-2 activation, and the secretion and cleavage of galectin-3 in U87MG glioma cells[J]. Neurosci Lett, 2007, 419(2): 172-7.
- [25] Barker TH, Baneyx G, Cardó-Vila M, *et al.* SPARC Regulates Extracellular Matrix Organization through Its Modulation of Integrin-linked Kinase Activity[J]. J Biol Chem, 2005, 280(43): 36483-93.
- [26] Piunti A, Pasini D. Epigenetic factors in cancer development: polycomb group proteins[J]. Future Oncol, 2011, 7(1): 57-75.
- [27] Okugawa Y, Grady WM, Goel A. Epigenetic Alterations in Colorectal Cancer: Emerging Biomarkers[J]. Gastroenterology, 2015, 149(5): 1204.
- [28] Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease[J]. Nat Biotechnol, 2010, 28(10): 1057-68.
- [29] Gigeck CO, Chen ES, Calcagno DQ, *et al.* Epigenetic mechanisms in gastric cancer[J]. Epigenomics, 2012, 4(3): 279-94.
- [30] Torres-Núñez E, Cal L, Suárez-Bregua P, *et al.* Matricellular Protein SPARC/Osteonectin Expression is Regulated by DNA Methylation in Its Core Promoter Region[J]. Dev Dyn, 2015, 244(5): 693-702.
- [31] Heitzer E, Artl M, Filipits M, *et al.* Differential survival trends of stage II colorectal cancer patients relate to promoter methylation status of PCDH10, SPARC, and UCHL1[J]. Mod Pathol, 2014, 27(6): 906-15.

[编辑: 刘红武; 校对: 黄园玲]