S100A4 基因表达在肿瘤转移中的作用

白 阳 孔 民 王敬泽*

（中国科学院动物研究所，生物膜与膜工程国家重点实验室，北京 100080）

摘要 肿瘤转移是细胞恶性的重要标志之一，有许多基因和因子都参与这一过程。对S100A4基因的研究发现，它可参与细胞周期调控、细胞增殖与分化、血管生成、细胞外基质重建等多种生命过程，调控细胞的生长和运动。在某些特定的肿瘤细胞内，它的表达含量的增加可促进肿瘤细胞发生转移，并与癌症的发生具有某些相关性，可能对人类癌症的发生具有预后作用。现就S100A4基因表达与肿瘤转移的关系进行初步的探讨，以期对癌症的临床诊断提供一些参考。

关键词 S100A4；肿瘤转移；肿瘤细胞；癌症

侵袭性和转移性是肿瘤细胞恶性的标志，它是通过肿瘤细胞与其周围组织的相互作用体现的。这种作用包括许多病理过程，如肿瘤细胞的增殖和脱离、细胞外基质侵袭、血管生成、血管扩散，最终转移到新的位置形成新肿瘤。肿瘤细胞从原发瘤转移到远隔部位是一个非常复杂的过程，它涉及到一系列连续的步骤。这个过程一般可分为4个阶段：(1)恶性瘤细胞从原发肿瘤中释出；(2)瘤细胞侵入脉管并在脉管内转运；(3)瘤细胞被阻滞，侵入组织间隙；(4)在另一脏器脉管外增殖、生长，形成集落，产生转移灶[1]。

许多基因和基因表达产物都参与了肿瘤转移的过程。在过去几年中的研究发现，S100家族是一类重要蛋白质，它们可促使人癌细胞发生侵袭和转移。尤其最近对S100A4的作用机制的研究表明，S100A4可促进肿瘤转移，可能对人类癌症的发生具有预后作用。

1 S100A4简介

S100A4蛋白是S100蛋白家族的19个成员之一，由101个氨基酸组成，分子量约11kDa。它还被称为p9Ka、calvasculin和CAPL(calcium protein placental homolog)。由不同研究组克隆的S100A4基因还被命名为*mts1*(metastasin)、pEL-98、18A2、42A和*fsp*(fibroblast-specific protein)。人S100A4基因及另外12个S100家族基因已定位在染色体1q21上。该蛋白质家族最早是从牛脑中分离得到的低分子量(10~12 kDa)酸性蛋白质[2]。由于它们可以100%的溶解在硫酸铵溶液中，因此被称作S100蛋白。这些蛋白质在组织和细胞内通过转运Ca^{2+}，进而参与细胞周期调控、细胞增殖分化、酶的激活和肌肉收缩等多种生命活动。

S100A4蛋白是以非共价结合二聚体存在于细胞内，而以共价结合二聚体分泌到细胞外。推测Ca^{2+}结合后可导致S100A4蛋白构型改变，在表面暴露新的结合位点，从而可与一系列靶蛋白结合。胞外基质中的S100A4蛋白是一种单体和二聚体共存的状态，其比例受Ca^{2+}结合程度影响[3]；胞内S100A4蛋白的同源二聚体和异源二聚体形式也是同时存在。因此，从S100A4可形成同源二聚体、异源二聚体、寡聚体的多种形式来看，其结构具有很强的可变性，这可能也是它在体内具有多种生物功能的结构基础。

2 S100A4在肿瘤转移中的作用

2.1 对癌细胞增殖的影响

在肿瘤细胞增殖过程中，S100A4可与肿瘤抑制蛋白p53结合从而促进细胞的增殖。用地塞米松(dexamethasone)诱导MMTV-*S100A4*(*mts1*)转染的B16大鼠黑色素瘤细胞克隆，发现S100A4的表达与野生型p53的梯度含量有关。S100A4与p53形成的复合物，可刺激细胞摆脱p53对G_1-S期调控点的控

收稿日期：2003-11-21 接受日期：2004-03-04
国家自然科学基金资助项目(No.3017071)
*通讯作者。 Tel: 010-62551668, Fax: 010-62565689, E-mail: wangjz@panda.ioz.ac.cn

制作用，从而通过S期[4]。进一步实验发现S100A4是与野生型p53的C末端调节域结合进而调节受p53调控的基因转录，如*p21/WAF*和*bax*[5]。在肿瘤发生的早期阶段可加速野生型p53功能的丧失，从而提高细胞的克隆选择性。

S100A4还可与CCN3(cysteine-rich 61/connective tissue growth factor/nephroblastoma overexpressed)作用，引起细胞内Ca^{2+}浓度上升，进而参与Ca^{2+}信号调控的细胞生长、运动和增殖等活动[6]。

2.2 在恶性细胞中高表达

临床上，S100A4基因的高表达往往与乳腺癌、前列腺癌和结肠癌的转移具有密切关系。在转化的大鼠成纤维细胞和发生转移的细胞中，S100A4呈梯度表达，显示其参与了肿瘤的转移。非转移性小鼠乳腺癌细胞在被转染入的S100A4基因后可诱导细胞发生转移。同样，将啮齿类的S100A4基因导入大鼠黑色素瘤B16细胞[7]和人乳腺癌MCF-7细胞[8]后，都可诱导肿瘤发生肺转移。而应用S100A4的反义RNA或抗S100A4核酶均可抑制高转移癌细胞的转移性[9]。

转基因小鼠研究表明，S100A4蛋白本身并不能促使细胞癌化。但当细胞由于原癌基因活化而癌变后，S100A4可促进其转移性的增加。将S100A4转基因鼠和*neu*转基因鼠(已知后代可产生乳腺癌)杂交，其携带这两种基因的子代，发生乳腺癌并伴有肺转移的几率要远远高于单纯的携带*neu*基因鼠[10]。用自发性乳腺癌GRS/A鼠与S100A4转基因鼠进行杂交，其GRS/A-S100A4杂合后代发生乳腺癌转移的比率要比单纯的GRS/A鼠高很多[11]。

2.3 影响癌细胞骨架的重排

S100A4蛋白可与细胞骨架内的成分作用，如非肌肉肌球蛋白重链[12]和非肌肉原肌球蛋白[13]。它可抑制蛋白激酶C[12]和酪蛋白激酶2[14]对肌球蛋白的磷酸化作用，并导致体外肌球蛋白肌丝的二聚体发生解聚。此外，S100A4蛋白可增加肌球蛋白可溶性从而控制其装配，也可直接影响肌球蛋白肌丝的稳定性。S100A4与非肌肉原肌球蛋白的结合被认为是影响肌动蛋白肌丝稳定性的原因。

已知ERBB2(HER-2/neu)参与的PI3K/AKT信号通路，可下调细胞增殖、修复细胞凋亡并促进细胞骨架的重排[15]。新的实验发现，成神经管细胞瘤中的ERBB2可通过信号通路PI3K-AKT1-ERK1/2直接作用于S100A4基因，促进S100A4蛋白的表达，从而参与肿瘤转移的发生[16]。

最近对S100A4基因的两个Ca^{2+}结合区和二聚化结合区进行的点突变研究发现，S100A4与肌球蛋白重链IIA的结合必须有Ca^{2+}的参与，且必须是S100A4的同源二聚体。而细胞伪足前缘处S100A4与其他蛋白的结合，Ca^{2+}却不是必需的[17]。研究参与调控S100A4在细胞伪足前缘定位的相关蛋白质，可以更深入的了解S100A4影响细胞骨架重排，进而影响肿瘤转移的作用机制。

2.4 与癌细胞黏附和侵袭相关

S100A4影响细胞骨架重排与膜相关的黏附糖蛋白CD44的重新分布有关，这样可能促使肿瘤细胞获得侵袭性。用两种小鼠肿瘤细胞系对E-钙黏蛋白和S100A4的关系进行检测，发现二者呈负相关，推测S100A4的表达增加可能与E-钙黏蛋白的表达下降有关。另用RT-PCR、Western印迹和免疫组化方法对人胃癌、初级胃癌进行的检测发现，在低分化细胞中，E-钙黏蛋白的表达量要比在高分化细胞中低的多，而S100A4的表达情况正好相反[18]。对人乳腺癌细胞中两种蛋白质进行的免疫组化分析，也得出了相似的结果[19]。

2.5 影响细胞外基质重建

肿瘤转移和侵袭过程中，S100A4对基质金属蛋白酶(MMP)的调节作用是其参与细胞外基质重建的关键。用锤头核酶转染高转移性骨肉瘤细胞可直接抑制S100A4基因的转录，导致MMP2、膜型1-MMP和内分泌组织抑制物TIMP-1的mRNA含量下降。对S100A4表达的抑制，也导致了被转染细胞穿过Matrigel-涂布滤膜的转移能力显著下降[20]。这些实验结果都反证了S100A4促进肿瘤转移的功能。但是，S100A4参与调节金属蛋白酶和它的抑制物的具体过程还不清楚。

2.6 促进新血管生成

血管生成在肿瘤形成和肿瘤转移中是一个重要过程。S100A4在诱导细胞高密度生长过程中，可显著下调血小板反应蛋白1(thrombospondin 1, THBS1)基因的表达，通过抑制THBS1的抗血管生成作用来促进血管生成。另一些实验结果显示，S100A4蛋白可能就是一个促血管发生因子[21]。*S100A4*(*mts-1*)转基因鼠中，肿瘤的生长可导致血管密度显著增加。S100A4二聚体能够刺激细胞运动，诱导体内角膜的新血管形成，但对体外的表皮细胞增殖没有影响。目前S100A4促进血管生成的确

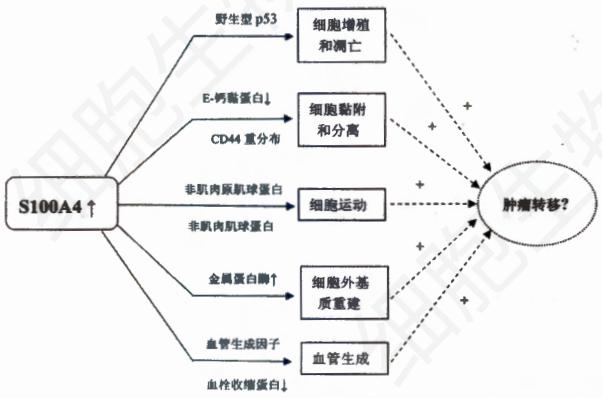

图 1　肿瘤中 S100A4 基因含量上升或蛋白质过量表达后可能的作用机制[22]

非肌肉原肌球蛋白、非肌肉肌球蛋白和野生型 p53 是细胞质内 S100A4 的靶蛋白。S100A4 基因高表达后可调控 E- 钙黏蛋白、金属蛋白酶和血栓收缩蛋白 I 的表达。↑：上升；↓：下降；+：促进。

切机制和 S100A4 胞外膜受体部分的结构还不清楚。

3　S100A4 在肿瘤转移中的作用机制

肿瘤的侵袭与转移是一个非常复杂的过程，涉及细胞黏附和分离、细胞外基质重建、细胞运动、血管生成等生命过程。许多基因及其表达产物都参与其中。已积累的证据表明，S100A4 蛋白参与了这些过程。其可能的作用机制见图 1。

4　小结

研究 S100A4 基因表达与肿瘤发生和转移的关系，可能在癌症的临床诊断与治疗方面具有重要意义。

有人对 349 名已确诊的癌症患者进行了为期 19 年的跟踪研究，分析了 S100A4 蛋白对乳腺癌的预后作用[23]。发现有 S100A4 蛋白表达的患者的存活率明显比没有 S100A4 蛋白表达的患者低。表明检测S100A4蛋白的表达水平和表达该蛋白质的细胞比例都可能对乳腺癌的临床诊断具有预后作用。

对胰腺癌[24]、胃癌[18]等癌症进行研究发现，有 93%(57/61)的恶性胰腺癌和 17%(3/18)的晚期胰腺上皮瘤灶中 S100A4 呈现高表达。而肺癌中 60%(80/135)都有 S100A4 的表达。低分化的胃腺癌细胞中，S100A4 的表达量要比高度分化的多，这与淋巴结肿瘤转移和腹膜扩散的检测结果一致。韩国科研人员也对胃腺癌中S100A4基因突变与表达含量变化进行了检测，68.8%(53/77)患者 S100A4 呈现中高度表达；正常的胃上皮细胞中没有 S100A4 表达；而在晚期胃癌、淋巴结转移阳性细胞和腹膜扩散细胞中 S100A4 都呈现高表达。但在这些细胞中均未发现 S100A4 基因突变。这些数据表明，S100A4 的过度表达与胃癌的高转移发生具有密切的关系[25]。

S100A4 mRNA在结肠癌细胞和组织取样中大量存在；正常的结肠黏膜上皮细胞和结肠腺瘤不含 S100A4 蛋白。对 709 名结肠癌患者的组织样品进行 S100A4 蛋白免疫组化检测发现，有 16% 呈现高表达，31% 呈现中度表达[26]。近期对 277 名结肠癌患者样品应用 S100A4 蛋白抗体进行免疫沉淀检测发现，有 64%(178/277)样品染色出现在细胞质中，另有 32%(88/277)样品染色出现在细胞核内。统计分析发现，核内 S100A4 蛋白的含量与肿瘤发生阶段显著相关，而胞质中含量与肿瘤发生阶段没有必然联系[27]。推测 S100A4 可能直接或间接的参与调控肿瘤转移相关基因的表达与翻译。

综上所述，S1004 蛋白可通过参与细胞黏附、细胞外基质重建、细胞运动等途径来调节细胞内外的多种生命过程，对肿瘤细胞转移具有促进作用。过去几年对 S100A4 蛋白的研究表明，它与癌症发生具有极大的相关性，如乳腺癌、胃癌、结肠癌等。对不同肿瘤进行的实验数据也正在不断积累，而且临床研究已开始向阐明S100A4蛋白对人肿瘤预后作用的方向拓展。

参考文献 (References)

[1] Chambers AF *et al. Nat Rev Cancer*, 2002, **2**: 563
[2] Moore BW. *Biochem Biophys Res Commun*, 1965, **19**: 739
[3] Tarabykina S *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 24212
[4] Parker C *et al. DNA Cell Biol*, 1994, **13**: 343
[5] Grigorian M *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 22699
[6] Li CL *et al. J Clin Pathol*, 2002, **55**: 250
[7] Parker C *et al. DNA Cell Biol*, 1994, **13**: 1021
[8] Grigorian M *et al. Int J Cancer*, 1996, **67**: 831
[9] Maelandsmo GM *et al. Cancer Res*, 1996, **56**: 5490
[10] Davies MP *et al. Oncogene*, 1996, **13**: 1631
[11] Ambartsumian NS *et al. Oncogene*, 1996, **13**: 1621
[12] Kriajevska M *et al. J Biol Chem*, 1998, **273**: 9852
[13] Takenaga K *et al. J Cell Biol*, 1994, **124**: 757
[14] Kriajevska M *et al. Biochim Biophys Acta*, 2000, **1498**: 252
[15] Spencer KS *et al. J Cell Biol*, 2000, **148**: 385
[16] Hernan R *et al. Cancer Res*, 2003, **63**: 140
[17] Kim EJ *et al. J Biol Chem*, 2003, **278**: 30063
[18] Yonemura Y *et al. Clin Cancer Res*, 2000, **6**: 4234
[19] Pedersen KB *et al. Br J Cancer*, 2002, **87**: 1281
[20] Bjornland K *et al. Cancer Res*, 1999, **59**: 4702
[21] Ambartsumian N *et al. Oncogene*, 2001, **20**: 4685

[22] Mazzucchelli L. *Am J Pathol*, 2002, **160**: 7
[23] Platt-Higgins AM *et al. Int J Cancer*, 2000, **89**: 198
[24] Rosty C *et al. Am J Pathol*, 2002, **160**: 45
[25] Cho YG *et al. APMIS*, 2003, **111**: 539
[26] Gongoll S *et al. Gastroenterology*, 2002, **123**: 1478
[27] Flatmark K *et al. J Pathol*, 2003, **200**: 589

The Relationship between S100A4 Gene and Metastasis of Tumor Cells

Yang Bai, Min Kong, Jing-Ze Wang*

(*State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Science, Beijing 100080, China*)

Abstract Metastasis is an important malignant character of tumor. Many genes and factors are involved in this process. Former studies found that S100A4 gene could participate in many vital cellular activities, including cell cycle control, cell proliferation and differentiation, angiogenesis, remodeling of the extracellular matrix. In some tumor cells, the expressive up-regulation of protein S100A4 is correlated with metastasis and oncogenesis. This article is written to provide some useful information for the study of the relationship between S100A4 gene and metastasis.

Key words S100A4; metastasis; tumor cells; cancer

Received: November 21, 2003 Accepted: March 4, 2004
This work is supported by the National Natural Science Foundation of China (No.3017071)
*Corresponding author. Tel: 86-10-62551668, Fax: 86-10-62565689, E-mail: wangjz@panda.ioz.ac.cn

青岛市微生态工程技术研究中心招聘广告

青岛东海药业有限公司位于青岛胶南市临港工业区，是集研发、生产和销售为一体的高新生物技术企业。公司占地656亩，总投资额52.8亿元，完全建成后的东海药业将是中国最大的微生态产业基地之一，主要从事生物药、中药、保健品、饮品、微生态制品的研发、生产与销售。

本公司研发实力雄厚，是青岛市政府批准的微生态工程技术研究中心，并在北京设有分支研究机构，是国家863项目成果的产业化基地。公司具有进行微生物、基因工程药物研发、中试所需的设施、设备，如20L、300L、5000L自控发酵系统、气相色谱、连续流离心机、冻干机、胶囊机、纯化水系统、PCR仪、压片机、实验动物中心等先进的仪器设备及设施。公司设有菌种部、发酵部、制剂部、基因工程部、蛋白质生化部、情报信息部、药理部、临床部等十一个研发及相关部门。由留美、留日、留加归国专家牵头负责，在新药的研究开发、中试、申报方面积累了丰富的经验，获得了3个一类新药、2个二类新药、1个三类新药、3个四类新药证书的佳绩，数项技术达到国际先进水平。现因筹建国际合作研究中心，扩大研发队伍的需要，特向全国乃至世界诚聘立志于科研事业，具有创新能力的人员加盟。

1、研发课题组长(5名)

要求：医学、药学或生命科学相关专业，硕士研究生以上学历，有主持国家级或省部级研发课题经历，至少发表二篇以上学报级研发论文，年龄、性别不限，有博士学位者优先。

2、基因工程、菌种、发酵、药物制剂技术、药理学、临床医学研究人员(各3名)

要求：生物技术、微生物、药学、临床医学相关专业大学本科以上学历，35岁以下，创新能力强，发表过研究论文或有新药申报经验者优先。

3、技术支持经理(1名)

要求：临床医学专业硕士及以上学历，35岁以下，有一年以上消化科临床工作经历，善于交流与沟通，口才佳。

电 话：0532-719988-8015 传 真：0532-7199788 E-mail：lylywater@21cn.com
邮 编：266400 地 址：青岛胶南市上海中路8号
联系人：人力资源部李小姐