

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.04.047

· 专论与综述 ·

GP73 与消化系统疾病的研究进展

邱小辉 姜爱民[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院消化内科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 高尔基体是一个非常重要的细胞器,最近研究表明,它除了蛋白加工外,还能参与细胞分化、细胞间信号传导和细胞凋亡,其功能障碍也许和疾病的发生、发展有着某种联系。随着蛋白组学技术的发展,使得筛选新的肿瘤标志物成为可能,其中高尔基体蛋白 73(GP73)被认为是最值得期待的血清标志物之一,尤其是早期肝癌的血清标志物。本文对近年来有关 GP73 结构、表达分布以及消化系统疾病的研究进展进行综述。

关键词: GP73; 消化系统疾病; 肝癌

中图分类号: R57 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)04-786-03

Research Progress of the Relationship Between GP73 and Digestive System Disease

QIU Xiao-hui, JIANG Ai-min[△]

(Department of Gastrerterology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: The Golgi body is a very important organelle. Recent studies have shown that it not only can process protein, but also participate in cell differentiation, signal transduction and apoptosis, its dysfunction may be involved in the onset and development of diseases. The development of proteomics technology makes screening new tumor markers become possible, Golgi protein 73 (GP73) is considered to be one of the most anticipated, especially serum markers of early liver cancer. In this paper, the recent researches which have related to GP73 structure, expression with distribution and digestive system disease are reviewed briefly.

Key words: GP73; Digestive system disease; Hepatic cancer

Chinese Library Classification(CLC): R57 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)04-786-03

随着基因技术、蛋白质组学、肿瘤免疫等研究飞速发展,筛选出一些潜在的新的肿瘤标志物。其中,高尔基体蛋白 73 (GP73)被认为是最值得期待的血清标志物之一。近期研究表明,GP73 在多种疾病中表达异常,本文结合目前国内外的文献报道,对 GP73 的结构、表达分布及其与消化系统疾病的研究进展做一概述。

1 GP73 的发现和结构

2000 年, Kladney 等^[1]在研究成人巨大细胞性肝炎病原学时,第一次发现了定位在高尔基体上的蛋白 GP73。其基因位于第 9 号染色体长臂,全长 3080 个核苷酸,内含 1 个 1299 bp 的卡放阅读框,编码区位于 199-1404nt,共编码 400 多个氨基酸,因在 WB 显示的相对分子质量 73000 而得名,又称 II 型高尔基体膜蛋白 (Type II Golgi membrane protein, COLPH2) 和 GOLM1。正常情况下,GP73 是一个通过一个膜生成结构域锚定在顺面高尔基体膜上的跨膜糖蛋白,疾病状态时候可分泌到达胞内体以及细胞表面。GP73 蛋白是一个定位于高尔基体顺

面完整的跨膜蛋白,由胞内、跨膜和胞外 3 个区域构成,即由一个较短的胞内域(N 末端)、跨膜区及一个较长的胞外域(C 末端)构成,N-末端疏水,单一跨膜区和信号肽酶切割位点(aa28-aa29),紧接跨膜区有数个参与蛋白质之间相互作用的蜷曲螺旋,C 末端含有高度酸性结构域和 5 个可能的糖基化位点,在 N 端第 55 个氨基酸后具有转换酶识别位点,但经转换酶(PC)弗林酶切后,C 端胞外部分释放到细胞质,经过内体运输到细胞表面,从而进入血清,形成可溶性 GP73,即 sGP73^[2]。

2 GP73 的表达与分布

Wright 等^[3]采用基因捕获法建立了 C 末端截短型的 GP73 小鼠模型与野生型小鼠 GP73 对比研究 GP73 的生理活性,结果表明不同组织中的 GP73 mRNA 含量有明显差异,小肠、结肠及胃组织中 GP73 mRNA 含量最高,在肝、肾、脾、肺、子宫以及睾丸中也有 GP73 mRNA,但其含量较低,而心脏组织中含量最低。免疫组织化学研究证实,多种细胞都能表达 GP73,主要是上皮细胞。在肺部,主要表达于支气管纤毛柱状上皮细胞。肾脏远曲小管和集合管高表达,但在肾小球几乎无表达。在前列腺中,表达局限于前列腺腺体上皮细胞。结肠肠腺表面高分化结肠细胞表达尤其强烈。在正常肝脏中,大部分肝细胞不表达 GP73,其主要表达于汇管区的胆管上皮细胞中,定位于管腔侧的细胞核和细胞膜之间,是典型的极性上皮细胞中的高尔基体

作者简介:邱小辉(1987-),女,硕士研究生,主要研究方向:消化系统疾病,电话:13796005202,E-mail:why32@126.com

△通讯作者:姜爱民,E-mail:jiangaimin@medmail.com.cn

(收稿日期:2013-03-15 接受日期:2013-04-11)

分布^[5]。GP73 表达于人体大部分组织中,推测该蛋白质具有管家基因功能,然而其 mRNA 和蛋白在不同组织中表达水平的巨大变化,提示该蛋白质可能具有有效的调控能力及多种功能。

3 GP73 与肝脏疾病的关系

3.1 GP73 与肝脏良性疾病

Kladney 等^[10]应用免疫组化检测人体组织中的 GP73 的表达,发现成人巨细胞肝炎患者的肝组织中,GP73 在多核肝细胞中显著升高。应用野生型和突变型腺病毒感染肝细胞癌 Hep3B 细胞,发现腺病毒感染后 GP73 表达升高,其浓度和腺病毒 EIA 和 DBP 蛋白浓度成正比。说明腺病毒感染上调 GP73,并特异的需要腺病毒 EIA 和它的特异性 BPCT 反应区。上述均说明病毒感染可使 GP73 表达上调。应用免疫荧光技术研究发现,不表达 HBV 的 HepG2 细胞和 HepG2T14.1 细胞不表达 GP73 蛋白,但在 HBV 转染 HepG2 细胞形成的 HepG2.2.15 细胞 GP73 蛋白高水平表达,提示 HBV 复制可能激发 GP73 蛋白表达。通过检测慢性乙型肝炎、慢性丙型肝炎、酒精性肝硬化、自身免疫性肝炎和正常肝脏组织中 GP73 蛋白水平,4 组患者肝组织中 GP73 表达水平高于正常肝脏 70 倍以上,而各病理组之间差异无统计学意义。自身免疫性肝硬化或酒精性肝硬化患者肝脏 GP73 蛋白水平显著增高,提示肝脏内部还存在非病毒依赖的调节途径。上述实验结果说明不管是由病毒感染引起还是由非病毒原因引起的肝脏疾病,GP73 水平均显著上调。研究各种肝炎与 GP73 表达之间的关系,同样发现急性肝炎和自身免疫性肝炎病人的肝细胞中 GP73 表达增强,并且其表达水平随着病情恢复逐渐降至正常。同时,GP73 在慢性丙型肝炎和酒精性肝病患者中表达也增强,其水平与疾病的发展阶段(肝组织纤维化进展阶段)相关,而与分级(脂肪变性细胞比例)无关,提示 GP73 的升高与肝脏组织重塑、肝硬化结节形成密切相关,而与肝细胞的坏死性炎症关系不大。他们最后得出 GP73 的表达途径可能存在不同的机制,一种是在急性肝细胞受损过程中激发,而另一种是在慢性肝脏组织重塑和纤维化过程中被激发,而这种进行性组织重塑和纤维化是 GP73 表达的主要激发因素,且这种调节对疾病的严重性和慢性程度有阈值要求。通过比较了由 Wilson 病导致的肝损害和神经损害两组患者肝组织中 GP73 的表达情况,发现 GP73 表达升高,肝型比神经型更为明显,得出在 Wilson 病肝细胞中 GP73 含量增高与铜超载无关,主要是由肝脏的炎症、纤维化及发育不良所致。

3.2 GP73 与肝癌

原发性肝癌(Primary hepatic cancer,PHC)是国内外常见的恶性肿瘤之一,目前它的诊断主要根据影像学、血清 AFP 和病理学检查。AFP 是唯一推荐检测肝癌的血清标志物,但敏感度和特异度均不理想。因此,为了提高患者的生存率,就非常需要一种能够检测出早期的方法。2005 年 Block 等^[10]。发现在肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma,HCC)美洲旱獭血清中,GP73 显著高于非 HCC 美洲旱獭,首先指出了 GP73 与 HCC 之间的密切相关性。随后 GP73 在 HCC 早期诊断中引起了广泛的关注。

2005 年 5 月,Schwemer 等^[11]。应用表面增强激光吸收/电离飞行质谱技术研究 GP73 在肝脏疾病诊断中的价值,结果显

示:74%、95%;优于 AFP 和异常凝血酶原(DPC)。2005 年 12 月,Marrero 等^[12]。应用 Western blot 检测、密度扫描定量分析 352 例受试者血清中的 GP73 水平,发现在 HCC 患者中 GP73 表达强度显著高于肝硬化患者或正常人群,以 10 个相对强度单位作为阈值时,其检测特异度和敏感度分别达 69% 和 75%。在散点分布图中能清楚地看出:GP73 诊断早期 HCC 的敏感度(62%)显著高于 AFP(25%)。在 56 例 AFP 水平低于 20 ng/L、临床确诊的早期 HCC 患者中,有 32 例 GP73 水平显著升高。所以认为 GP73 在诊断早期肝癌中,比 AFP 具有更高价值。尤其在诊断早期 HCC 中,GP73 具有明显优势。随着蛋白组学技术的进一步发展,GP73 的异质体岩藻糖基化的 GP73 (Fc-GP73)被提出,而且岩藻糖基化的 GP73 与肝癌的发生更为密切。在一项包括 80 名患者的研究中,Fc-GP73 诊断肝癌的敏感度和特异度高达 90% 和 100%。提示可能在一些肝癌患者,其血清中 GP73 的水平不高,但 Fc-GP73 明显增高,因此,血清中这些 Fc-GP73 可能是更好的肝癌标志物^[13]。

因为 GP73 在肝癌血清学诊断中显示出良好应用前景,国内外许多学者积极建立 GP73 定量检测及样本验证方法。Riener 等^[14]。采用免疫组织化学法发现肝细胞肝癌和胆管细胞癌(BDC)均高表达 GP73,GP73 的表达水平与肝癌的分级有关。同时采用双抗体夹心 ELISA 方法检测肝癌患者血清 GP73 浓度,结果显示,与健康人比较,胆管细胞癌和丙型肝炎后肝细胞肝癌患者的血清 GP73 水平显著升高。同时研究还发现,GP73 高表达的 BDC 患者,预后较 GP73 低表达的好。因此,在丙型肝炎患者中监测血清 GP73 有可能预测肝癌的发生。最近,Sun 等^[15]。用同样的方法研究得出与 Riener 实验一致的结论,同时,他们还发现肝癌组织中 GP73 的表达与肿瘤大小、血管侵犯等呈正相关,提示肿瘤的侵犯和转移。以上两个实验充分证明了无论是肝细胞还是胆管上皮细胞的恶性病变,都可以刺激 GP73 的表达和分泌。肝癌患者血清中升高的 GP73 正是来源于发生癌变的肝细胞,从而为其成为肝癌的血清标志物提供了根据。

在亚洲人群的研究中,Hu 等^[16]。发现 HCC 患者血清 GP73 水平约高出健康人的 17 倍,明显高于之前 Marrero 等报道的结果(9.4 倍),说明 GP73 这一指标在肝癌血清标志物中更适用于中国人群。毛一雷等^[17]毛一雷,杨华瑜,徐海峰。等。新的肝癌血清标记物 GP73 在肝癌诊断中的初步研究[J].中华医学杂志。初步确立了我国正常人的 GP73 水平范围,同样得出 GP73 在肝癌的诊断及监测复发中具有比 AFP 更高的敏感性及特异性的结论。结果还显示 GP73 在 HCC 患者术后 1 周内仍维持在一定水平上,而术后 2 周下降明显,复发时 GP73 重新增高;GP73 浓度与肿瘤大小和分级没有明显关联。说明 GP73 既可以作为诊断肝癌的敏感性指标,又对预测预后有一定的价值。

4 GP73 与食管肿瘤之间的关系

Katada 等^[18]人研究发现 GP73 基因在食道癌细胞系 TE4 (对 CDDP 高度抵抗)中高表达,降低 GP73 基因表达可以减少 TE4 细胞系对 CDDP 的抗性,该结果提示 GP73 基因将来可能成为分子靶向与 CDDP 共同治疗食道癌的一个候选靶基因。进

一步研究 GP73 表达降低使 TE4 对 CDDP 的抗性减小的具体机制,将有利于发现食道癌靶向治疗的新方法。

5 GP73 与胃的关系

有关胃癌细胞与高尔基体蛋白组学相关性分析国内已有报道,发现在高分化胃癌细胞中高尔基体的凋亡相关蛋白明显高于低分化胃癌细胞,而低分化胃癌细胞的高尔基体中与细胞增殖分化有关的蛋白又明显增多。首次明确了在胃癌分化程度不同时高尔基体的蛋白变化情况,但该项研究还未涉及到 GP73^[19]。研究以证实,正常人体中的大部分组织都能表达 GP73,其中在胃组织中的表达较高,肝癌是否是唯一一个血清中 GP73 出现高表达的恶性肿瘤?还是起源于上皮细胞的胃癌、乳腺癌类型中,血清 GP73 水平也会发生相应的改变?还需要进一步的深入研究。

6 GP73 与其他消化系统疾病的研究

Song 等^[20]研究发现 Hsp90(heat shock protein 90)抑制剂 IPI-504 可以下调胰腺癌组织中的 GP73 的表达。鉴于 GP73 广泛表达于多种细胞,国外报道高尔基磷酸蛋白高表达于各种类型的腺癌组织中,包括前列腺癌、乳腺癌、结肠腺癌和肾上腺癌。Block 等^[21]用 Western blot 法检测结肠癌患者血清中的 GP73,未发现其水平升高。如果 GP73 想要作为新的肿瘤血清标志物,仍需要更广泛更深入的实验室研究和临床对照实验来确定其所能扮演的角色。

GP73 被发现后一直受到广泛的关注,由上所知,其与肝脏疾病的发生、发展关系密切,但是在食管、胃、肠、胰腺等的疾病研究仍未深入涉及。到目前为止,GP73 在许多肿瘤中都出现了不同程度的增多表达,如肝癌、食管癌、肺癌、肾癌、前列腺癌、精原细胞瘤等,但是否在上述之外的其他肿瘤中亦有差异性表达,这需要我们更深入的研究。GP73 由于研究时间太短,其生物学功能尚不清楚,其作为管家基因的功能和调控亦需进一步的研究。

参考文献(References)

- [1] Kladney RD, Bulla GA, Guo L, et al. GP73, a novel Golgi-localized protein upregulated by viral infection[J]. *Gene*, 2000, 249(1-2): 53-65
- [2] Mukherjee S, Chiu R, Leung SM, et al. Fragmentation of the Golgi apparatus: An early apoptotic event independent of the cytoskeleton [J]. *Traffic*, 2007, 8(4): 369-378
- [3] Fimmel C, Wright L. Golgi Protein 73 as a Biomarker of Hepatocellular Cancer: Development of a Quantitative Serum Assay and Expression Studies in Hepatic and Extrahepatic Malignancies[J]. *Hepatology*, 2009, 49(5): 1421-1423
- [4] Wright LM, Yong S, Picken MM, et al. Decreased survival and hepato-renal pathology in mice with C-terminally truncated GP73 (GOLPH2)[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2009, 2(1): 34-47
- [5] Marrero JA, Romano PR, Nikolaeva O, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2005, 43: 1007-1012
- [6] Kladney RD, Tollefson AE, Wold WS, et al. Upregulation of the Golgi protein GP73 by adenovirus infection requires the E1A CtBP interaction domain[J]. *Virology*, 2002, 301(2): 236-246
- [7] Kladney R D, Cui X, Bulla G A, et al. Expression of GP73, a resident Golgi membrane protein, in viral and nonviral liver disease [J]. *Hepatology*, 2002, 35(6): 1431-1440
- [8] Iftikhar R, Kladney RD, Havlioglu N, et al. Disease and cell specific expression of GP73 in human liver disease [J]. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99(6): 1087-1095
- [9] Wright LM, Illuster D, Lutsenko S, et al. Hepatocyte GP73 expression in Wilson disease[J]. *Hepatology*, 2009, 51: 557
- [10] Block TM, Comunale MA, Lowman M, et al. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 779-784
- [11] Schwegler EE, Cazares L, Steel LF, et al. SELDI-TOF MS profiling of serum for detection of the progression of chronic hepatitis to hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2005, 41: 634-642
- [12] Marrero JA, Romano PR, Nikolaeva O, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2005, 43: 1007-1012
- [13] Drake RR, Schwegler EE, Malik G, et al. Lectin capture strategies combined with mass spectrometry for the discovery of serum glycoprotein biomarkers[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2006, 5(10): 1957-1967
- [14] Riener M O, Stenner F, Liewen H, et al. Golgi phosphoprotein 2 (GOLPH2) expression in liver tumors and its value as a serum marker in hepatocellular carcinomas[J]. *Hepatology*, 2009, 4(5): 1602-1609
- [15] Sun Y, Yang H, Mao Y, et al. Increased Golgi protein 73 expression in Hepatocellular carcinoma tissue. correlates with tumor aggression but not survival[J]. *Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(7): 1207-1212
- [16] Hu J S, Wu D W, Liang S, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a sensitivity and specificity for hepatocellular carcinoma of diagnosis in a hepatitis B-endemic Asian population [J]. *Med Oncol*, 2009, 27(2): 339-345
- [17] 毛一雷, 杨华瑜, 徐海峰, 等. 新的肝癌血清标志物 GP73 在肝癌诊断中的初步研究[J]. *中华医学杂志*, 2008, 88: 948-951
- [18] Mao Yi-lei, Yang Hua-yu, Xu Hai-feng, et al. Golgi protein 73 (GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma [J]. *National Medical Journal of China*, 2008, 88(14): 948-951
- [19] Katada T, Ishiguro H, Kimura M, et al. GP73 contributes to the sensitivity of cisplatin in esophageal cancer[J]. *Esophagus*, 2009, 6(3): 173-176
- [20] 何婷婷, 易永芬, 李艳青, 等. 胃癌细胞高尔基体蛋白组学技术平台的建议[J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(2): 27-31
- [21] He Ting-ting, Yi Yong-fen, Li Yan-qing, et al. Proteomic analysis of golgi complex in gastric cancer cells with different differentiation by organelle proteome[J]. *China Biotechnology*, 2010, 30(2): 27-31
- [22] Song D, Chaerkady R, Tan AC, et al. Antitumor activity and molecular effects of the novel heat shock protein 90 inhibitor, IPI-504, in pancreatic cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(10): 3275-3284
- [23] Block TM, Comunale MA, Lowman M, et al. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(3): 779-784