

斯钙素 2 基因在家畜上的研究进展

张莉英^{1,2}, 李陇平³, 陈 宏^{1,4*}, 蓝贤勇⁴

(1. 榆林学院 生命科学学院, 陕西 榆林 719000; 2. 陕西省白水县城关镇畜牧兽医站, 陕西 白水 715600;

3. 榆林学院 陕西省陕北绒山羊工程技术研究中心, 陕西 榆林 719000;

4. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 斯钙素 2 是斯钙素家族成员之一, 最早在鱼上发现, 参与鱼体内钙磷平衡的调节, 广泛表达于机体的多种组织器官, 是一种参与多种生物过程的糖蛋白激素和调节恶性肿瘤进展的分泌蛋白。STC2 是一种新的潜在的肿瘤标记的生物分子, 且在家畜妊娠、骨骼与体型大小方面等方面也起重要作用。本文主要综述了 STC2 基因和蛋白的发现、分子结构、及其在动物生理、病理、妊娠、生长等方面的作用, 并展望了在我国黄牛育种方面应用的可能性。

关键词: 斯钙素 2; 肿瘤; 家畜; 研究进展

中图分类号: S82; Q78

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2021)04-0045-04

斯钙素 (stanniocalcin, STC) 为一类分泌型糖蛋白激素, 最早在硬骨鱼的斯尼氏小体中发现, 近年来在人和哺乳动物中也发现存在 STC, 它参与体内 Ca^{2+} 、 PO_4^{3-} 平衡调节, 且与机体的生理、代谢、生殖、生长发育, 甚至应激反应都有关联。STC2 是 STC 家族成员之一。本文主要从 STC2 的发现、分子结构及其在家畜生理、病理方面的作用等做一综述。

1 STC2 的发现及分子结构

1998 年从人类骨肉瘤 cDNA 文库分离出编码 STC2 基因的 cDNA。该基因位于染色体 5q³⁵ 上, 大小约 13 kb, 包含 4 个外显子^[1]。其基因表达产物为 STC2, 也称斯钙素 2 相关肽, 是一个小分子, 由 302 个氨基酸组成的亲水性蛋白, 存在 11 个 α 螺旋和 1 个 β 折叠, 这是 STC2 稳定发挥生物学效应的结构基础。其 N 末端具有 1 段信号肽, 长约 24 个氨基酸残基, 还有由 1 段 15 个氨基酸残基组成的前导序列, 这表明 STC2 是一种分泌型糖蛋白质。在合成的过程中经信号肽固定至内质网的粗糙面, 剪切掉信号肽开始翻译, 加工成熟后经膜泡运输到细胞外发挥生物学作用^[2]。

2 STC2 的功能

STC2 在哺乳动物多种组织细胞和器官中均有表达, 参与与磷酸盐调节有关的生理、代谢、再生、应

激反应等过程。已发现 STC2 与多种疾病有关, 其表达水平在多种恶性肿瘤细胞上改变明显, 可作为多种肿瘤疾病诊断的标记基因, 参与肿瘤的发生、发展及预后。在正常组织中, 骨骼中表达量最高, 提示在骨骼生长发育过程中有某些作用。Ishibashi 认为 STC2 在肾脏上抑制磷酸盐摄取, 因为他们发现, STC2 转染至 CHO 细胞后, 其培养介质在小鼠肾脏中能抑制 $\text{Na}^+/\text{PO}_4^{3-}$ 协同转运启动子的活性。Moore 等人利用 Northern Blot 和双重染色技术发现, 在胰岛素 α 细胞中也检测到 STC2 的表达并染色, 说明 STC2 可能与血糖稳态的维持调节有关。

2.1 STC2 与肿瘤

越来越多的研究表明, STC2 的表达与肿瘤的发生发展有关, 与正常的组织相比, STC2 在多种恶性肿瘤细胞都高表达, 且 STC2 在不同的肿瘤组织中发挥双向作用。如在鼻咽癌、成纤维细胞瘤、食管鳞癌、胃癌、结直肠癌、肝癌、子宫内膜癌、头颈部鳞状细胞癌、肾细胞癌等起到促进肿瘤细胞的侵袭和转移, 促进癌症发生发展作用, 而在乳腺癌中起抑制癌症作用。在结直肠癌^[3]组织中, 与相应的正常组织相比, STC2 在结直肠癌中的表达显著升高, 且 STC2 高表达的结直肠癌患者总生存期较短。CHEN Bing 等人^[4] 研究发现 STC2 通过激活 MEK/ERK 和 PI3K/Akt 信号转导通路来促进结直肠癌的发生发展和 EMT 进展。YUAN Qiong 等人^[5] 研究发现

收稿日期: 2021-03-15 修回日期: 2021-04-18

基金项目: 国家肉牛牦牛产业技术体系专项 (CARS-37); 山东省农业良种工程项目 (2020LZGC014)

作者简介: 张莉英 (1989—), 女, 在读硕士, 主要从事动物遗传育种与畜牧生产研究。

* 通讯作者: 陈宏 (1955—), 男, 教授, 博导, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

STC2 可通过 PI3K/Akt 信号转导通路上调 P-glycoprotein, 而使得结直肠癌细胞对奥沙利铂的敏感性下降, 从而产生耐药现象。多种研究说明 STC2 有可能通过 PI3K/Akt 信号转导通路参与了肿瘤的发生发展。在胃癌^[6]中, STC2 高表达与淋巴结转移、远处转移和临床晚期显著相关, STC2 高表达的患者较 STC2 不表达的患者生存期显著降低 5 年。乳腺癌对女性健康的威胁非常大, Joensuu 等人^[7]研究发现, 在 72 例原发性乳腺癌的免疫组化中, STC2 高表达患者比 STC2 低表达患者生存率高 5 ~ 10 年, 同时在 10 年内复发率也较低。提示 STC2 高表达的乳腺癌患者拥有较长的无病生存期且预后较好。许多研究表明, STC2 与乳腺癌发生、发展有着非常密切的关联, 这也许会成为潜在的治疗乳腺癌的靶点, 为乳腺癌的治疗提供理论指导。

2.2 STC2 与妊娠

对不同生理状态下的妊娠早期大鼠子宫 STC2 表达和调节进行研究, 在第 1 天和第 5 天在子宫腔上皮分别检测到基础水平的 STC2 mRNA 表达。从第 2 天开始 mRNA 免疫染色逐渐开始增强, 第 5 天达高峰。在妊娠第 6 天, 可观察到高水平的 mRNA 表达。延迟着床时, 在子宫检测到基础水平的 STC2 mRNA 表达, 经雌激素处理正常着床后, 着床部位围绕着胚泡的腔上皮细胞 STC2 mRNA 被显著诱导, 可以观察到高水平的 STC2 免疫染色。做胚胎移植实验进一步可以证明, 着床部位 STC2 的表达可被植入的胚泡所诱导。在整个蜕膜期(从妊娠的第 7 ~ 9 天)蜕膜细胞中都观察到 STC2 免疫染色, 但 STC2 蛋白仅在第 7 天和第 8 天的原始蜕膜期被观察到, 在第 9 天表达量最高。对大鼠进行人工蜕膜处理, 可检测到强的 mRNA 信号, 明显高于对照组。这与正常妊娠过程一致。提示, STC2 可能在大鼠着床和蜕膜过程中起某些作用^[8], 但具体作用机理未见报道。

2.3 STC2 与骨骼和体型大小

STC2 在骨组织中高表达。Takei 等^[9]的研究表明, STC2 的表达同样受到体内 Pi 的调控, 对维持正常的骨骼发育十分重要。骨细胞分泌的磷酸盐调节激素 *Fgf23* 基因敲除小鼠的平滑肌细胞中, 受胞外无机 Pi 刺激 STC2 mRNA 表达显著增高, 同时伴随骨钙素和骨桥蛋白的高表达。

Jepsen 等人^[10]通过研究发现 STC2 可以与妊娠相关血浆蛋白 - A (PAPP - A) 共价结合, 抑制其蛋白水解活性, 导致胰岛素样生长因子蛋白不能被裂解, 失去活性, 使哺乳动物不能正常生长。Gagliardi 等人^[11]通过构建 hSTC2 转基因小鼠品系, 对小鼠

STC2 基因表达分析表明, 它在发育过程中不高度表达, 但在成年小鼠心脏和骨骼肌表现出最高的 STC2 mRNA 稳态水平。STC2 过表达的小鼠早在胚胎发育 12.5 d 就显示宫内生长受限和发育迟缓表型和严重的出生后生长迟缓, 进而使得 hSTC2 转基因小鼠比同窝出生的野生型小鼠体型上小约 45%。STC2 诱导的可能是侏儒表型, 睾丸器官肿大, 骨骼肌质量显著减少。而且他的实验还得出 hSTC2 诱导的严重生长迟缓与 GH 或 IGF 表达的降低无关。因此, STC2 可以作为有效的生长抑制剂并减少膜内和软骨内骨发育以及骨骼肌生长, 这也意味着这些组织是斯钙素的特定生理靶点。

2.4 STC2 在家畜上的研究进展

2.4.1 在犬上 犬最显著的表型性状是体型的大小, 在韦云芳等人关于犬体型大小相关基因的研究中发现, STC2 是一种犬体型大小相关基因之一, 它的变异会导致其体型的变小^[12]。2017 年发表在权威期刊《自然》上的一篇文章, 研究发现了 83 个新的影响人类身高的基因变化。还发现了以前未知的几个与骨骼生长相关的生物学途径的基因, 其中一个 *STC2*, *STC2* 基因的两种不同的变异, 都对身高产生很大的影响。虽然这两种变异很罕见, 但有一种变异会让人高出 1 ~ 2 cm^[13]。早在 2013 年 Law 等的一项研究表明, STC2 可促进 VEGF 表达(血管内皮生长因子, 简称 VEGF), 或许可以应用靶向疗法(如 VEGF 促进剂), 作为一种潜在的药物靶点来帮助身材矮小的人^[14]。

2.4.2 在羊上 Zhu 等人^[15]在体外研究了 STC2 对山羊乳腺上皮细胞(GMECs)凋亡、增殖和泌乳的影响及其调控机制, 结果表明, STC2 在体外能促进 GMECs 增殖并抑制其凋亡。高表达 STC2 通过 ELISA 的方式可以激活 Ras/MEK/ERK 和 PI3K/AKT/mTOR 信号通路, 促进增殖并增强 GMECs 中 β -酪蛋白和甘油三酯的合成, 促进泌乳。Fan 等人^[16]在绒山羊毛发生周期的研究进展中表明, STC2 在山羊毛囊中表达, 是一个毛发生长基因, 促进毛囊细胞的增殖在毛囊周期调控中发挥着重要作用。为研究 STC2 对体外奶山羊子宫内膜上皮细胞(EECs)的影响。Cui 和 Liu 等人^[17]构建了 STC2 过表达载体(pc3.1-STC2), 用 pc3.1-STC2 转染 EECs 后, STC2 的 mRNA 和蛋白表达水平显著增加, EDU 和 CCK - 8 检测结果显示 STC2 能显著促进 EECs 的增殖; 此外, 细胞凋亡试验表明, STC2 显著抑制 EECs 细胞凋亡, Western Blot(WB)分析结果显示 STC2 显著性下调 BAX 表达并上调 BCL2 表达。血管内皮生长因子(VEGF)是子宫内膜接受性生物

标志物,在小鼠接受性子宫内膜(RE)的建立中起重要作用,WB分析显示STC2的过表达降低了VEGF,而对STC2的干扰则增加了VEGF,预测STC2通过体外调节VEGF参与奶山羊RE的建立,而RE的建立是胚胎着床最关键的一步。然而,在体内,STC2在奶山羊子宫内腔容受性中的发展还需进一步研究。

2.4.3 在牛上 Mith等^[18]对美国Gelbvieh牛进行生长性状的全基因组关联分析(GWAA),揭示了在染色体BTA20上,Gelbvieh生长性状的多效QTL的常见位置候选基因是STC2,STC2是最接近BTA20上QTL的基因,而STC2本身也是一个与小鼠、犬生长性状相关的基因。最近在美国安格斯牛、SimAngus和赫里福德牛的饲料效率和生长性状中也检测到了针对Gelbvieh生长性状的QTL,STC2与染色体BTA20上的QTL区域最接近,STC2也是优先考虑共同的位置候选基因^[19]。在转基因小鼠中STC2的过度表达会减少膜内和软骨内骨发育和骨骼肌生长,并致侏儒表型。STC2也已被证明是野生型小鼠出生后生长的有效负调节剂。预测STC2可能是一个与肉牛生长性状相关的遗传标记。

3 小结与展望

最早认识STC2的功能是参与矿物质钙、磷代谢的调节,近来发现STC2在人肿瘤疾病,小鼠妊娠,骨骼生长,犬体型大小方面也有重要作用。STC2逐渐成为一种新的肿瘤标记生物分子。STC2在家畜犬上是一个生长性状相关基因,在羊上影响山羊EECs的增殖,促进泌乳,体外促进子宫内壁上皮的增殖,促进形成接受性子宫内膜,从而有利于胚胎着床,但在体内试验研究未见报道。在牛上,STC2是一个生长性状相关多效QTL的常见位置候选基因,但是对于STC2基因是通过调节哪一个或者哪几个生长性状,以何种方式调节及具体机制尚待研究。插入缺失标记(InDel)是基于插入缺失位点两侧的序列设计特异引物进行PCR扩增的标记,可利用便捷的电泳平台进行分型,并且分型准确性高、稳定性好,避免了由于特异性和复杂性导致的后续分析模糊。故借助InDel方法对家畜生长性状相关候选基因进行筛选已被广泛应用。所以,人们可以在我国黄牛群体中,以STC2基因为候选基因,研究黄牛STC2基因InDel、CNV和SNP位点的多态性,分析其与生长性状的关联性,以期找到STC2基因与肉牛生长性状的关联性和分子标记,为肉牛品种选育提供理论基础。也为在肉牛上对STC2基因表达的调控机制和作用研究奠定基础。

参考文献:

- [1] ISHIBASHI K, MIYAMOTO K, TAKETANI Y, et al. Molecular cloning of a second human stanniocalcin homologue (STC2)[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1998, 250(2): 252-258.
- [2] 李伟,周蒙,董秋萍,等.人STC2蛋白的生物学分析[J].基因组学与应用生物学,2018,37(11):5138-5145.
- [3] ZHANG C, CHEN S, MA X, et al. Upregulation of STC2 in colorectal cancer and its clinicopathological significance[J]. OncoTargets and Therapy, 2019, 12: 1249-1258.
- [4] CHEN Bing, ZENG Xiao, HE Yu, et al. STC2 promotes the epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer cells through AKT-ERK signaling pathways[J]. Oncotarget, 2016, 7(44): 71400-71416.
- [5] YUAN Qiong, ZHAN Lin, ZHANG Li-li, et al. Stanniocalcin 2 induces oxaliplatin resistance in colorectal cancer cells by upregulating P-glycoprotein[J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2016, 94(9): 929-935.
- [6] ARIGAMI T, UENOSONO Y, ISHIGAMI S, et al. Clinical significance of stanniocalcin 2 expression as a predictor of tumor progression in gastric cancer[J]. Oncology Reports, 2013, 30(6): 2838-2844.
- [7] JOENSUU K, HEIKKILÄ P, ANDERSSON L C. Tumor dormancy: Elevated expression of stanniocalcins in late relapsing breast cancer[J]. Cancer Letters, 2008, 265(1): 76-83.
- [8] XIAO Li-juan, YUAN Jin-xiang, SONG Xin-xin, et al. Expression and regulation of stanniocalcin 1 and 2 in rat uterus during embryo implantation and decidualization[J]. Reproduction (Cambridge, England), 2006, 131(6): 1137-1149.
- [9] TAKEI Y, YAMAMOTO H, SATO T, et al. Stanniocalcin 2 is associated with ectopic calcification in α -klotho mutant mice and inhibits hyperphosphatemia-induced calcification in aortic vascular smooth muscle cells[J]. Bone, 2012, 50(4): 998-1005.
- [10] JEPSEN M R, KLØVERPRIS S, MIKKELSEN J H, et al. Stanniocalcin-2 inhibits mammalian growth by proteolytic inhibition of the insulin-like growth factor axis[J]. Journal of Biological Chemistry, 2015, 290(6): 3430-3439.
- [11] GAGLIARDI A D, KUO E Y W, RAULIC S, et al. Human stanniocalcin-2 exhibits potent growth-suppressive properties in transgenic mice independently of growth hormone and IGFs[J]. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2005, 288(1): 92-105.
- [12] 韦云芳,李飞翔,汪斌,等.犬体型大小相关基因的研究进展[J].中国畜牧杂志,2020,56(1):51-57.
- [13] MAROULI E, GRAFF M, MEDINA-GOMEZ C, et al. Rare and low-frequency coding variants alter human adult height[J]. Nature: International Weekly Journal of Science, 2017, 542(7640): 186-190.
- [14] LAW A Y S, WONG C K C. Stanniocalcin-1 and -2 promote angiogenic sprouting in HUVECs via VEGF/VEGFR2 and angiotensin signaling pathways[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2013, 374(1/2): 73-81.
- [15] ZHU C, JIANG Y, ZHU J, et al. CircRNA8220 sponges MiR-

- 8516 to regulate cell viability and milk synthesis via Ras/MEK/ERK and PI3K/AKT/mTOR pathways in goat mammary epithelial cells[J]. *Animals*, 2020, 10(8): 1347.
- [16] FAN Y X, WU R B, QIAO X, et al. Hair follicle transcriptome profiles during the transition from anagen to catagen in Cashmere goat (*capra hircus*) [J]. *Genet. Mol. Res.*, 2015, 14(4): 17904-17915.
- [17] CUI J, LIU X, YANG L, et al. MiR-184 combined with STC2 promotes endometrial epithelial cell apoptosis in dairy goats via RAS/RAF/MEK/ERK pathway [J]. *Genes*, 2020, 11(9): 1052.
- [18] SMITH J L, WILSON M L, NILSON S M, et al. Genome-wide association and genotype by environment interactions for growth traits in US Gelbvieh cattle [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 1-13.
- [19] DE LAS HERAS-SALDANA S, CLARK S A, DUIJVESTELJN N, et al. Combining information from genome-wide association and multi-tissue gene expression studies to elucidate factors underlying genetic variation for residual feed intake in Australian Angus cattle [J]. *BMC genomics*, 2019, 20(1): 1-16.

Research Rrogress of Stanniocalcin 2 Gene in Livestock

ZHANG Li-ying^{1,2}, LI Long-ping³, CHEN Hong^{1,4*}, LAN Xian-yong⁴

(1. Life Science College, Yulin University, Yulin, Shaanxi 719000; 2. Animal Husbandry and Veterinary Station of Chengguan Town, Baishui County, Baishui, Shaanxi 715600; 3. Shaanxi Province Shanbei Cashmere Goat Engineering Technology Research Center, Yulin University, Yulin, Shaanxi 719000; 4. College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Stanniocalcin 2 (STC2) is a member of the stanniocalcin family first discovered in fish which participates in the regulation of calcium and phosphorus homeostasis. STC2 is widely expressed in various tissues and it also involves in various biological processes as a glycoprotein hormone and as a secreted protein regulating the progress of malignant tumors. STC2 is a new potential tumor marker biomolecule, and it also plays an important role in pregnancy, bone and body size in livestock. In this article, the discovery, molecular structure of *STC2* gene and protein, and its role in animal physiology, pathology, pregnancy, growth were mainly reviewed, and the possibility of its application in cattle breeding in my country was prospected.

Key words: stanniocalcin 2; tumor; livestock; research progress

(上接第 32 页)

参考文献:

- [1] 布拉德 D C. 家畜传染病学和寄生虫病学 [M]. 2 版. 北京: 农业出版社, 1986.
- [2] 梁扩寰. 肝脏病学 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 210-211.
- [3] 姚火春. 兽医微生物学实验指导 [M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2006: 105-107.
- [4] 赵静. 牛羊肝片吸虫病 [J]. 中国动物保健, 2014, 16(11): 13-38.
- [5] 顾有方, 张洪英. 实验感染肝片吸虫山羊的病理学生理学 [J]. 中国兽医学报, 2001, 21(1): 63-66.
- [6] 俄金. 牦牛肝片吸虫的诊治调研报告 [J]. 中国畜牧兽医文摘, 2017, 33(10): 170-171.

Effect and Analysis of Fasciola Hepatica on Physiological and Biochemical Level in Cow

MA Hong-fang

(Ji'nan Agriculture Comprehensive Law Enforcement Corps, Ji'nan 250021)

Abstract: [Objective] In the experiment the effect of *Fasciola hepatica* on immune level of dairy cows, 5 *Theileria Annulata* cows and 5 healthy cows were selected in Jinan city about 3 Dairy farms. [Method] The physiological index was studied according to Temperature, respiration, heart rate and HBC, WBC, HB and htc in blood. The biochemical indexes were studied according to GLU, ALT and TB. [Result] The result showed that the temperature, respiration, heart rate was increased significantly compared with the experimental group, RBC, HB and HCT significantly increased and the WBC were significantly decreased in cows infected *Fasciola hepatica*. The biochemical indexed showed that the GLU, ALT and TB increased were significantly decreased contrasted to healthy group. [Conclusion] The sucking of liver has a certain effect on the physiological and biochemical level of dairy cows.

Key words: *Fasciola hepatica*; cow; physiology and biochemistry