

卵巢癌分子生物学研究新进展

张 岷 杨 阳 张晓磊 郑建华

卵巢恶性肿瘤是女性生殖器常见的三大恶性肿瘤之一。卵巢恶性肿瘤病死率居妇科肿瘤首位,已成为严重威胁妇女生命和健康的主要肿瘤。卵巢癌缺乏早期诊断的指标,易早期转移、浸润以及其对化疗药物的耐受,是造成其高病死率、影响预后的关键因素。研究者一直在努力开发有效的检测手段,但仅有 20% 的卵巢癌在早期被发现,晚期卵巢癌患者 5 年生存率仅为 25% ~ 30%。故研究卵巢癌分子生物学发病机制,对于早期发现并提高治疗效果均有重要意义,现将本病与癌基因和抑癌基因、信号转导的相关研究概况综述如下。

一 抑癌基因和癌基因

卵巢癌与许多公认的肿瘤抑制基因突变相关。癌基因只要有一个等位基因发生突变就可引起癌变,而抑癌基因的两个等位基因必须同时灭活才会失去功能导致癌变。但是,下面也存在几个重要的例外。

1. 抑癌基因: TP53: P53 蛋白是人体内主要的抗癌蛋白,人类的基因称 TP53。由于 P53 蛋白显性失活的作用,TP53 基因的功能即可能因为一个等位基因灭活而失去。TP53 的基因突变与功能丧失是卵巢癌中最常见的基因异常之一。大约 4% 的交界瘤中可见 TP53 的突变和过度表达,而早期癌中为 10% ~ 20%,晚期癌中为 40% ~ 60%,这提示 TP53 与卵巢癌转移潜力相关。临床上,专家已尝试对应用卡铂和紫杉醇化疗的病人使用复制缺陷腺病毒载体携带重组野生型 TP53 进入人体腹腔从而恢复 P53 的功能。结果显示癌抗原 125 (CA125) 的血清水平在半数病人中降低,但卡铂和紫杉醇化疗疗效均没有显著提高。选择性复制遗传修饰 E1B 缺陷腺病毒的模型已成功构建,可使培养的有 TP53 突变的卵巢癌细胞消散同时保护正常细胞不被破坏。然而,目前在临床上腹腔内部用遗传修饰 E1B 缺陷腺病毒的模型来抑制

卵巢癌细胞生长还有待于研究。MDM2 为 E3 泛素连接酶,可结合 P53,使其降解。带有野生型 P53 的白血细胞中,破坏 P53 - MDM2 的联合,可提高 P53 稳定性并诱导细胞凋亡^[1]。

P73: p73 基因是近年发现的 p53 基因家族新成员,与 p53 基因在结构和功能上具有很高的同源性,研究显示: P73 全长表达的蛋白可激活 p53 相关靶基因,诱发细胞周期阻滞和细胞凋亡,因而被认为可能是候选的肿瘤抑制基因,然而其截短蛋白又与 P53 具有截然不同的生物学功能,所以使得其在肿瘤的发生和细胞凋亡的研究中备受瞩目。研究显示从卵巢交界性肿瘤到卵巢癌, P73 的阳性率逐渐下降,提示 P73 的表达丢失,可促进卵巢癌的形成与发展^[2]。P73 表达缺失主要是由杂合性缺失 (LOH) 及甲基化两种方式导致的,与 P53 不同, P73 的突变率在人类肿瘤中很低,那么在卵巢上皮性肿瘤中的表达缺失是何种原因造成的还有待于研究。

PTEN (人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因): PTEN 位于 10q23.3, 转录产物为 515kb mRNA。其蛋白产物含有一酪蛋白磷酸酶的功能区和约 175 个氨基酸、与骨架蛋白 tenascin (细胞外基质糖蛋白)、auxilin (辅助蛋白) 同源的区域。PTEN 的失活突变,仅在 3% ~ 8% 的散发癌中被发现,这些散发癌大部分是子宫内膜样癌,一般处于癌症初期。

印迹抑癌基因: 印迹抑癌基因的功能也可仅因一个等位基因灭活而失去。至今卵巢癌中已发现 16 个候选抑癌基因, 3 个已知带有印迹: ARHI (也称 DIRAS3)、PLAGL1、PEG3。① ARHI 编码一种与 Ras 有同源性的 26kDa GTP 酶,但 ARHI 有一个独特的 34 个氨基酸的氨基末端延伸部分,这一部分介导抑癌作用。ARHI 的功能性等位基因在卵巢癌中下调大于 60%: 其中有 30% 是由于杂合性丢失 (LOH)、10% 启动子超甲基化、>20% 是因表达调控及 mRNA 半衰期缩小^[3]。ARHI 的表达与长期无进展生存率有关。ARHI 的高表达抑制细胞增殖、侵袭和血管发生,而且诱导自噬; ② PLAGL1 编码一种 55kDa 的锌指蛋

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30973188)

作者单位: 150001 哈尔滨医科大学附属第一医院妇产科

通讯作者: 郑建华, 电子信箱: doctorzheng52@yahoo.com.cn

白,在 39% 的卵巢癌中通过 LOH 和转录调控表达下调。PLAG1 的高表达抑制培养的癌细胞增殖和异种移植瘤的形成;③ PEG3 编码一种 140kDa 大小的锌指蛋白,在 75% 的卵巢癌中通过 LOH(20%)、启动子甲基化(26%)下调,也可能通过转录调控下调^[4]。PEG3 的高表达通过 p53 的 BAX 下游易位抑制生长诱导凋亡。但是,PEG3 的持续表达没有提高预后。使用去甲基化剂和组蛋白脱乙酰基酶诱导 ARHI 和 PEG3 在治疗后的卵巢癌细胞系中表达,可同时抑制癌细胞生长。如果能找到一种有效恢复正常基因印迹的方法,无疑将给肿瘤的预防及治疗带来一丝新的曙光。

BRCA1 和 BRCA2 (乳腺癌 1 号基因和乳腺癌 2 号基因);BRCA1 和 BRCA2 遗传性 DNA 修复缺陷占卵巢癌起因的 10% ~ 15%。突变携带者在一生中患卵巢癌的几率因不同遗传缺陷而不同,BRCA1 突变为 30% ~ 60%、BRCA2 为 15% ~ 30%、遗传性非息肉性结肠癌约 7%。BRCA1 和 BRCA2 都需要同源重组来修复 DNA 双链断裂。卵巢癌细胞通过正常等位基因发生 LOH 而失去 BRCA1 和 BRCA2 功能。缺失 BRCA1 或 BRCA2 的细胞通过错误的机制修复 DNA,导致染色体重组和基因组不稳定,但可以增加机体对 DNA 损伤药物(如铂类)的敏感性。所以铂类药物敏感是由于突变导致 BRCA2 基因开放阅读框被修复从而恢复细胞同源重组的能力。与铂类药物相似,多聚聚合酶抑制剂在同源重组修复缺陷的个体也有效,针对有遗传性 BRCA1、BRCA2 突变的卵巢癌患者这项临床实验正在进行^[5]。

2. 癌基因:至少有 15 个癌基因与卵巢癌有关,其中 11 个表现出基因组扩增。DNA 拷贝数的异常也在 37% 的含非编码小 RNA 的 283 个基因座中发现。相比拷贝数目异常,癌基因激活突变在绝大多数组织分型中不常见。

KRAS 基因主要通过激活点突变的第 12、13 或 61 位密码子而突变成有活性的癌基因。KRAS 基因变异可以很容易在血液和唾液标本中检测出来,而且在卵巢癌患者中有很高的普遍性,在一般人群中 6% ~ 10% 可以检测出 KRAS 突变,与之相比,患卵巢上皮癌的患者有超过 25% 可以检测出^[6]。

PIK3CA 突变仅在子宫内膜样的小分子团和卵巢透明细胞癌中常见。存活率分析、相关的基因拷贝数、突变数据、患者预后表明 PIK3CA 突变可降低患者存活率。为证明这一发现是在蛋白质水平,

PIK3CA 的免疫组化产品 p110 α 和 P - Akt 蛋白对 522 例浆液性卵巢癌应用基因芯片技术,结果显示这种蛋白的过表达与降低存活率相关^[7]。

RAB25(小 G 蛋白)在大多数卵巢癌中扩增并高表达,调节细胞迁移性、侵袭性、凋亡和自噬^[8]。RAB25 也介导生存压力应答,如化疗、紫外照射、血浆减少、葡萄糖消耗。运送特殊小干扰 RNA 能靶向结合 RAB25。

最近研究表明,WNT5A 蛋白在恶性卵巢癌中的表达明显高于良性卵巢肿瘤和正常卵巢上皮,且在恶性卵巢癌患者中 WNT5A 表达高者预后较差,提示 WNT5A 可能参与了卵巢癌的发生,并可能是影响卵巢癌患者预后的一个重要因素^[9]。通过对卵巢癌亲本细胞系 A2780 及从 A2780 筛选出的奥沙利铂耐药细胞系进行基因差异的分析,研究者发现耐药细胞系 WNT5A 的 mRNA 水平明显升高,并经实时定量 PCR 证实,因此推测 WNT5A 可能参与了卵巢癌细胞对铂类药物耐受的过程。

其他扩增的癌基因也是卵巢癌治疗的潜在靶点。Aurora 激酶的小分子抑制因子在数种癌症中已得到评估。抑制 NOTCH3 基因或其配体的抗体已开发出来^[10]。靶向 PKC(蛋白激酶 C)的氨基末端 PHOX - BEM1 区域的新组分已出现,PKC 驱动转化需要这个区域。

二、信号转导

在 50% 以上的卵巢癌中,至少有 6 条信号通路被激活。

1. 上皮性卵巢癌中 EGFR(表皮生长因子受体):表达率高达 60%^[11]。基础研究证实,EGFR 选择性结合后可以激活下游不同信号途径,如 RAS - RAF - MEK - ERK 通路和 PI₃K - AKT - mTOR 通路,因此,除 EGFR 本身之外,影响 EGFR 信号系统的各个因子均可能影响抗 EGFR 药物的疗效^[12]。RAS - RAF - MEK - ERK 通路中 ERK 是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen - activated protein kinase, MAPK)家族成员之一,包括 ERK1/ERK2 两个重要的成员。ERK 同时扮演着膜蛋白和转录因子的双重角色,在信号途径中有其重要的作用^[13]。曾有研究表明,上皮性卵巢癌中 ERK mRNA 的表达高于卵巢良性肿瘤和正常卵巢组织,提示 ERK1/2 通路在上皮性卵巢癌中被活化,促进肿瘤的发生。且 ERK mRNA 在分化差的上皮性卵巢癌患者中阳性表达率要高于分化较好的患者,提示 ERK 可能作为预测卵巢上皮细胞癌恶性程度及预后

的指标,而减少 ERK 的表达或者抑制其活性可能会成为治疗卵巢癌新策略。

2. $PI_3K - AKT - mTOR$ 通路:在约 70% 的卵巢癌中激活,这条通路的激活与细胞耐药相关。 PI_3K 通路激活能通过基因扩增($PIK3CA$ 和 $AKT2$)、激活突变($PIK3CA$)或失活突变($PTEN$)实现,但在多种癌症中,这条通路通过自分泌和旁分泌的方式激活酪氨酸激酶生长因子受体。Liu 等^[14]的研究证实,AKT 的表达水平与患者预后相关,即它的激活可能促进了肿瘤细胞的生长增殖和侵袭转移,因此以 AKT 为靶点的治疗可能会改善卵巢癌患者的预后。 PI_3K 和 Akt 的抑制剂阻碍异体卵巢癌生长,赋予紫杉醇和顺铂潜在的细胞毒性。目前 PI_3K 抑制剂现已进入临床 1~2 期试验^[15]。

3. 溶血磷脂酸(LPA):是一种酯类小分子物质,具有细胞间信号转导作用,由溶血磷脂酶 D 产生,G 蛋白连接的 LPA 受体 LPAR2 和 LPAR3 在卵巢表面上皮细胞恶性转化过程中上调。LPA 通过激活 PI_3K/Akt 信号转导通路抑制顺铂诱导的卵巢癌细胞的凋亡。环状磷脂酸阻碍 ATX(自分泌运动因子,autotaxin)可降低 LPA 水平和转移能力,但不是初始癌的生长^[16]。LPA 中和抗体已开发,正在寻找可能阻碍卵巢癌细胞增殖的 LPA 受体抑制剂^[17]。

4. IL-6:在大多数卵巢癌中高度表达,导致 IL-6 受体被自分泌激活,接着激活 JAK2,推动其磷酸化、信号转导器核转移以及激活 STAT3,对刺激癌细胞增殖、抑制凋亡、诱导血管发生起到正向调节的作用。至少在 70% 的卵巢癌中发现磷酸化激活的 STAT3 核定位,减少了卵巢癌患者生存率。激活的 STAT3 也转移到黏着斑复合体,并与 SRC(鸡肉瘤病毒基因组中的基因)组合加速移动。除了 IL-6 抗体和 JAK2 抑制剂,可能针对大多数卵巢癌的新 STAT3 抑制剂正在开发。

5. $MEKK3 - IKK - NF - \kappa B$: $NF - \kappa B$ 转录因子通过多种细胞因子和生长因子启动,在过半数卵巢癌中被组成性激活,而通常是通过结合 $I\kappa B$ 激酶复合体而激活的。 $I\kappa B$ 激酶复合体包含两个组分($IKK\alpha$ 和 $IKK\beta$)以及一个调节亚基($IKK\gamma$)。 $MEKK3$ 在超过 50% 的卵巢癌中表达,是激活 IKK 复合体的一种激酶。 $MEKK3$ 和 $I\kappa B$ 相继活化后, $NF - \kappa B$ 发挥上调抗凋亡基因(CFLAR)、抗氧化剂蛋白、生长调节细胞因子(IL-6 或 GRO1)和血管生成因子(IL-8)的作用^[18]。选择性抑制 $NF - \kappa B$ 的效果是难以达到的,

腺病毒载体(E1A)基因治疗可降低 $NF - \kappa B$ 信号,并能提高移植瘤对紫杉醇的敏感性。

6. STAT3:是转录信号转导子与激活子家族(signal transducers and activators of transcription,STATS)的重要成员,该通路接受细胞因子,生长因子等细胞外信号刺激,作用于核内特异的 DNA 片段,调控靶基因转录,影响细胞的增殖、分化和凋亡。STAT3 异常激活与多种恶性肿瘤发生发展及预后密切相关。研究显示, $P - STAT3$ 在卵巢癌组织中表达情况呈线性相关($r = 0.482, P < 0.05$),而 $P - STAT3$ 与凋亡基因 caspase-3 在卵巢癌组织中无相关性($r = 0.127, P > 0.05$)^[19]。其可能机制是失活状态的 STAT3 不能与 cyclinD1(细胞周期素 1)表达,抑制细胞增殖。总之,STAT3 异常激活与卵巢癌凋亡还有待于进一步明确。

综上所述,卵巢癌在中国发病率逐年增高,虽然根治卵巢癌的根本方法是早期手术切除,但大部分患者在确诊时已发生远处转移。常规的手术、化疗、内分泌治疗均难以明显延长这些患者的生存期,而基因治疗是近年来研究的热点。基因治疗的关键在于搞清楚发病机制。探明各因子对卵巢癌的侵袭转移及预后有重要的作用。由于信号通路的复杂性,预测任何一个信号通路的作用都是困难的。单个抑制因子仅能产生适中的抑制转移瘤生长效果。因此,抑制卵巢癌生长必须抑制多重通路。相信随着分子生物学技术的发展,对卵巢癌发病机制的认识会越来越清晰,从而为药物治疗卵巢癌提供新的靶向目标。

参考文献

- 1 Kojima K. MDM2 antagonists induce p53 - dependent apoptosis in AML: implications for leukemia therapy[J]. Blood, 2005, 106: 3150 - 3159
- 2 郭晓荣,沈丹华,杜金荣. P73、CD59、MMP-19 在上皮性卵巢癌及交界性肿瘤中的表达[J]. 航空航天医药, 2010, 21(10): 1749 - 1753
- 3 Yu Y. Regulators and effectors of small GTPases[J]. Methods Enzymol, 2006, 407: 455 - 467
- 4 Feng W. Imprinted tumor suppressor genes ARHI and PEG3 are the most frequently downregulated in human ovarian cancers by loss of heterozygosity and promoter methylation[J]. Cancer, 2008, 112(7): 1489 - 1502
- 5 Drew Y, Calvert H. The potential of PARP inhibitors in genetic breast and ovarian cancers. Ann NY Acad Sci, 2008, 1138: 126 - 145
- 6 Ratner E, Liu L, Boeke M, et al. A KRAS - variant in ovarian cancer acts as a genetic marker of cancer risk[J]. Cancer Res, 2010, 70: 6509 - 6515
- 7 Huang J, Zhang L. Frequent genetic abnormalities of the PI_3K/AKT

- pathway in primary ovarian cancer predict patient outcome[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2011, 50(8):606-618
- 8 Gautschi O. Aurora kinases as anticancer drug targets[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(6):1639-1648
 - 9 Peng J, Zhang X L. Wnt5a as a predictor in poor clinical outcome of patients and a mediator in chemoresistance of ovarian cancer[J]. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2011, 21(2):280-288
 - 10 Li K. Modulation of Notch signaling by antibodies specific for the extracellular regulatory region of Notch3 [J]. *Biol Chem*, 2008, 283(12):8046-8054
 - 11 Siwak DR, Carey M, Hennessy BT, *et al.* Targeting the epidermal growth factor receptor in epithelial ovarian cancer: current knowledge and future challenges[J]. *J Oncol*, 2009, 69(1):1-20
 - 12 刘云鹏 徐玲. 影响表皮生长因子受体靶向治疗的相关分子检测[J]. *中华肿瘤杂志*, 2011, 33(2):81-83
 - 13 Martin C, Chen S, heilos D, *et al.* Changed genome heterochromatinization upon prolonged activation of the Ras/ERK signaling pathway [J]. *PLoS one*, 2010, 5(10):e13322
 - 14 Liu J, Cheng SH, Sun SJ, *et al.* Phosph-AKT1 expression is associated with favourable prognosis in pancreatic cancer[J]. *Anna Aca Med*, 2010, 39(3):548-554
 - 15 Raynaud F L. Pharmacologic characterization of a potent inhibitor of class I phosphatidylinositol 3-kinases. *Cancer Res*, 2007, 67(12):5840-5850
 - 16 Murph M. Of spiders and crabs; the emergence of lysophospholipids and their metabolic pathways as targets for therapy in cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(22):6598-6602
 - 17 Beck H P. Discovery of potent LPA2 (EDG4) antagonists as potential anticancer agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(3):1037-1041
 - 18 Karin M. Nuclear factor κ B in cancer development and progression [J]. *Nature*, 2006, 441(7092):431-436
 - 19 侯涛, 章颖. STAT3 信号转导通路及其靶基因产物与卵巢癌恶性潜能的关系[J]. *肿瘤防治研究*, 2008, 35(8):576-578
- (收稿:2011-09-08)
(修回:2011-09-27)

多囊卵巢综合征与代谢综合征

苏丹 祁冰 侯丽辉 李妍 郝松莉

多囊卵巢综合征 (polycystic ovarian syndrome, PCOS) 是女性最常见的内分泌疾病, 主要病理生理改变为生殖障碍和代谢异常, 该病的发病原因尚未明确, 但研究表明 PCOS 与胰岛素抵抗及代谢敏感性高度相关。代谢综合征 (metabolic syndrome, MS) 是多种代谢成分异常聚集的病理状态, 是一组复杂的代谢紊乱症候群, 是导致糖尿病 (DM) 心脑血管疾病 (CVD) 的危险因素, 其簇发发生可能与胰岛素抵抗 (IR) 有关。肥胖的 PCOS 患者通常具有胰岛素抵抗, 但这些症状也表现在体型瘦的妇女当中^[1]。PCOS 妇女发展为 MS, 不仅仅只因为肥胖, 还可能与其自身独特的病理生理改变有关。目前, 胰岛素抵抗、向心性肥胖、高雄激素血症在 MS 与 PCOS 联系中的作用正在研究。

一、多囊卵巢综合征和代谢综合征概述

PCOS 和 MS 的定义都引发了该领域专家间的激

烈争论。关于 PCOS 目前国际上较为通用的诊断标准为鹿特丹标准, 但欧洲、美国及亚洲的国家都有依据本国的特点制定的符合本国人群特征的诊断标准。虽然普遍定义尚未成立, 但一致认为, 这种综合征是育龄妇女最常见的内分泌疾病, 患病率达 6.6% ~ 6.8%^[2,3]。至于代谢综合征则根据选择标准的不同, 至少有 6 种诊断定义已提出^[4]。目前由全美胆固醇教育计划成人治疗小组 III (NCEPATP III) 提出的定义最普遍用于临床和研究^[5]。MS 患病率依种族的不同而不同, 且与年龄有很大关系。与同龄的男性相比, 绝经前妇女似乎患 MS 发病率比较低, 但在 PCOS 患者中却丧失了这种优势。

二、MS 在 PCOS 女性中的患病率

MS 和 PCOS 是育龄妇女的常见疾病, 当 MS 和 PCOS 结合起来研究时, 最有价值的是二者重叠的部分。更具体地说, 与同年龄的普通人群相比, PCOS 患者 MS 的发病率更高。虽然报道的患病率因种族地区的不同而不同, 但这种联系已经在美国、欧洲、巴西、中国、韩国、印度和多种族人口的 PCOS 患者中流行^[4-13]。世界范围内大多数 PCOS 的研究已经证实了在 PCOS 妇女中 MS 的患病率明显高于对照组。这

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划资助项目 (2007BAI20B015); 2010~2011 年国家公益性行业慢病专项基金资助项目 (201107005); 黑龙江省自然科学基金资助项目 (ZJY0606-01)

作者单位: 150040 哈尔滨, 黑龙江中医药大学附属第一医院妇产科

通讯作者: 侯丽辉, 电子信箱: houlhui2007@sina.com