to risk stratification in non - ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C - reactive protein, and B - type natriuretic peptide[J]. *Circulation*, 2002,105(15):1760 - 1763

7 Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, *et al.* For the Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study Investigators. Measurement of C - reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(26):1959 - 1965

8 Jialal I, Stein D, Balis D, *et al.* Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor therapy on high sensitive C - reactive proteins levels[J]. *Circulation*, 2001, 103(15):1933 - 1935

9 Maisel A, Hollander JE, Guss D, *et al.* and the REDHOT Investigators. Primary results of the Rapid Emergency Department Heart Failure Outpatient Trial(REDHOT): a multicenter study of B - type natriuretic peptide levels, emergency department decision making and outcomes in patients presenting with shortness of breath[J]. *J Am Coll*

Cardiol, 2004, 44(6):1328 - 1333

10 Bhardwaj A, Rehman SV, Mohammed A, *et al.* Design and methods of the Pro - B Type Natriuretic Peptide Outpatient Tailored Chronic Heart Failure Therapy(PROTECT) Study[J]. *Am Heart J*, 2010, 159(4):532 - 538

11 Hlatky MA, Greenland P, Arnett DK, *et al.* on behalf of the American Heart Association Expert Panel on Subclinical Atherosclerotic Diseases and Emerging Risk Factors and the Stroke Council. Criteria for evaluation of novel markers of cardiovascular risk: a scientific statement from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2009, 119(17):2408 - 2416

12 Hochholzer W, Morrow DA, Giugliano RP. Novel biomarkers in cardiovascular disease: update 2010[J]. *Am Heart J*, 2010, 160(4):583 - 594

(收稿日期:2013 - 03 - 14)
(修回日期:2013 - 04 - 07)

S100A8 和 S100A9 在妇科恶性肿瘤中的表达和临床意义

王 颖 陈苗苗 朱雪琼

S100A9(calgranulin B,MRP 14)是钙离子结合蛋白 S100 蛋白家族的成员,其基因位于人染色体 1q21,通常与 S100A8(calgranulin A,MRP8)通过化学结合形成特殊的异二聚体^[1]。S100A8 和 S100A9 最初是粒细胞分泌而被发现的,在后来的研究中发现 S100A8 和 S100A9 作为炎症介质在急、慢性炎症反应中表达升高。近年来,越来越多的研究发现 S100A8 和 S100A9 在大多数的恶性肿瘤细胞中表达上调,其表达还和肿瘤的形成、浸润、转移、及化疗耐药等相关,尤其是炎症相关性癌^[2]。本文就 S100A8 和 S100A9 蛋白在妇科恶性肿瘤中的表达、在早期诊断、预测肿瘤转移和预后等中的临床意义进行综述。

一、S100A8 和 S100A9 在宫颈癌中的表达和意义

1. S100A8 和 S100A9 在宫颈癌癌变中的表达变化:S100A8 mRNA 在宫颈鳞癌组织中的表达高于正常宫颈组织^[3]。但关于 S100A9mRNA 和蛋白在宫颈鳞癌中的表达变化,报道结果不一^[4-6]。Qin 等^[4]采用基因表达系列分析,发现 S100A9mRNA 在宫颈鳞癌组织中的表达低于正常宫颈组织,并经实时定量聚合酶链反应证实。而大部分的研究却表明,S100A9

在宫颈鳞癌中的表达上调。国外学者 Chao 等^[5]采用含有 7334 经过验证序列的人类 cDNA 的基因芯片研究 30 例宫颈癌 I ~ II 期行根治性子宫颈切除术患者,发现 S100A9mRNA 在宫颈鳞癌中的表达较癌旁正常宫颈组织上调,其上调经过实时定量聚合酶链反应技术进一步得到验证。但是这些研究未对 S100A9 蛋白在宫颈鳞癌组织中的表达进行研究,在笔者的前期实验中,采用二维凝胶电泳分离宫颈鳞癌和癌旁正常宫颈组织的差异蛋白,然后采用基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱进行蛋白鉴定,发现 S100A9 蛋白在宫颈鳞癌中的表达明显高于癌旁的正常宫颈组织,并经免疫印迹方法进一步证实^[6]。

Zhu 等^[7]的研究表明,S100A9 的表达在正常宫颈组织、CIN、宫颈鳞癌进展的过程中其表达逐渐下降,其表达与宫颈鳞癌的淋巴结转移和分期呈负相关,S100A9 阳性表达的宫颈鳞癌 5 年生存率明显高于 S100A9 阴性表达的宫颈鳞癌。COX 比例风险分析提示 S100A9 为宫颈鳞癌发生的保护因素。但是,Koskimaa 等^[8]发现 S100A9 在宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)中高表达,随后,在 120 例 CIN 中进一步研究,发现 S100A9 的表达和 CIN 的级别呈正相关,认为 S100A9 可作为评估 CIN

级别的潜在指标。在我们的研究中^[9],采用免疫组化方法检测 S100A9 在正常宫颈组织、CIN、宫颈癌鳞状上皮中的表达,分析其与宫颈鳞癌临床病理因素之间的相关性,发现 S100A9 在正常宫颈组织、CIN、宫颈癌中的表达逐渐增高,在 CIN 中的表达随级别的增加而逐渐增加。同时还发现,S100A9 与宫颈鳞癌的组织分化程度密切相关,不同分化的宫颈鳞癌中 S100A9 的表达依次为高分化 > 中分化 > 低分化。在正常宫颈组织和 CIN 鳞状上皮的基底层细胞中均未发现 S100A9 蛋白的表达。提示 S100A9 主要参与了宫颈鳞癌的分化,而癌细胞中 S100A9 蛋白的表达与宫颈鳞癌的临床分期、淋巴转移、血管侵犯无明显相关性。但宫颈鳞癌细胞中 S100A8 蛋白的表达可以预测癌症无进展生存期(SPF)^[10]。

2. S100A8 和 S100A9 在宫颈癌治疗及其疗效中的意义:Qin 等^[4]将纯化的重组 S100A8 和 S100A9 加入宫颈鳞癌 Caski 细胞后,用流式细胞仪检测 Annexin V 标记的凋亡细胞,用划痕实验来检测宫颈癌 Caski 细胞的侵袭力,发现经过 S100A8 和 S100A9 处理的细胞,其凋亡率明显升高,细胞侵袭能力和基质金属蛋白酶 2 的表达明显降低。表明 S100A8 和 S100A9 有抑制宫颈鳞癌细胞侵袭能力,并通过促进凋亡来抑制肿瘤的增殖和转移。

酪蛋白激酶 II 可诱导人乳头瘤状病毒(human papillomavirus type 16,HPV16)E7 的磷酸化而参与宫颈癌的发生。Tugizov 等^[11]将纯化的 S100A8 和 S100A9 加入含有 HPV16 E7 的动物模型中,通过对酪蛋白激酶 II 活性及 HPV16 E7 磷酸化作用的检测发现,当 S100A8 和 S100A9 形成二聚体时具有抑制酪蛋白激酶 II 介导的 HPV E7 磷酸化,从而达到减少宫颈癌的发生率的作用。Zhu 等^[7]敲除体外培养的宫颈鳞癌细胞 C-33A(HPV 阴性)及 SiHa(HPV 16 阳性)中的 S100A9 后,细胞中的基质金属蛋白酶 9 的表达增强,同时 PI₃K/Akt 信号通路被激活从而增强肿瘤细胞的侵袭力和抗凋亡的能力,为宫颈鳞癌的治疗提供了一个新的研究思路。

Zhu 等^[12]选取 10 例处于 II b ~ IV 期的中分化宫颈鳞癌患者,进行同步放化疗,其中高敏感组和低敏感组各为 5 例,采用二维凝胶电泳分离两组的差异蛋白,然后采用基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱进行蛋白鉴定,发现高敏感组中的 S100A9 的表达上调,并经过免疫印迹得到验证。表明 S100A9 高表达的中分化宫颈鳞癌患者比低表达的患者接受同步放化疗的效果更好,提示 S100A9 可能成为宫颈鳞癌同

步放化疗敏感度预测的标志物。该实验组^[10]选取 68 例 I B ~ II A 期巨块型宫颈鳞癌患者,进行以顺铂为基础的辅助化疗,发现化疗后宫颈鳞癌和间质中 S100A8 和 S100A9 的表达均明显增高。化疗前宫颈鳞癌中 S100A8 和 S100A9 高表达的患者对以顺铂为基础的辅助化疗更加敏感。而间质中两者的表达与化疗的敏感度无相关性。

二、S100A8 和 S100A9 在子宫内膜癌中的表达及临床意义

1. S100A8 在子宫内膜癌中的表达变化:关于 S100A8 在子宫内膜癌中表达的研究并不多。Guo 等^[13]运用尺寸排阻色谱法(size-exclusion chromatography,SEC)及二维凝胶电泳分离子宫内膜癌及正常子宫内膜之间的差异蛋白,经过基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱鉴定差异蛋白,结果示 S100A8 子宫内膜癌中高表达,而在正常内膜组织中却没有检测到。马爱荣等^[14]选取 30 例正常子宫内膜组织和 30 例子官内膜癌组织进行研究,发现 S100A8 mRNA 在子宫内膜癌中的表达水平明显高于正常子宫内膜组织。在不同的病理分期中,S100A8mRNA 在 III、IV 期子宫内膜癌组织中的表达水平明显高于 I、II 期组织。同时,S100A8mRNA 在低分化子宫内膜腺癌中的表达水平明显高于高分化和中分化子宫内膜腺癌中的表达水平,提示 S100A8 与子宫内膜癌的发生和进展相关。

2. S100A8 在子宫内膜癌治疗及疗效中的意义:为探讨 S100A8 表达对子宫内膜癌细胞系 Hec-1B 凋亡的影响及其对子宫内膜癌化疗药物敏感性的作用,黄带发等^[15]将 S100A8 siRNA 转染到人子宫内膜癌细胞 Hec-1B。采用 RT-PCR 技术,发现转染 S100A8 siRNA 的 Hec-1B 细胞中 S100A8 表达抑制率达 80%。同时,发现转染组 Hec-1B 细胞凋亡率(30.34 ± 10.30)% 显著高于对照组(18.14 ± 2.68)%,顺铂、表柔比星、紫杉醇等化疗药物对转染 S100A8 siRNA 的 Hec-1B 细胞的抑制作用明显增强,表明抑制 S100A8 基因的表达可使 Hec-1B 细胞对化疗药物的敏感性增强,提示该基因参与调节子宫内膜癌细胞凋亡,与子宫内膜癌耐药相关。

三、S100A8 和 S100A9 在卵巢癌中的表达及临床意义

1. S100A8 和 S100A9 在卵巢癌中的表达变化:Cortesi 等^[16]选取患卵巢癌且未经治疗的 6 位患者,用二维凝胶电泳及蛋白组学方法研究正常卵巢组织和卵巢癌组织间的蛋白表达差异,发现 S100A8 在卵巢肿瘤组织和间质中的表达均较正常卵巢组织和

间质明显上调。此外,对卵巢癌患者的腹腔积液进行质谱分析及氨基酸测序发现 S100A8 也存在于腹腔积液中。Ott 等^[17]选取卵巢癌、良性卵巢肿瘤组织以及相应患者的血清进行二维凝胶电泳,在(10~20)kDa 低分子量的水平选取蛋白点,并进行质谱分析和氨基酸测序,发现 S100A8 和 9 在恶性卵巢肿瘤组织中的表达均高于良性肿瘤组织,同时,在恶性卵巢肿瘤患者的血清和肿瘤的囊液中可以检测到 S100A8 和 S100A9 的表达。但是在良性卵巢肿瘤患者的血清和肿瘤的囊液均未检测到 S100A8 或 S100A9 的表达,表明 S100A8 和 S100A9 的表达与卵巢癌的进展相关。Shield - Artin 等^[18]研究 50 例有症状的卵巢癌患者及 48 例卵巢组织正常者的血浆,采用免疫耗竭及液相色谱质谱联用的方法进行分离,发现两者之间存在包括 S100A9 在内的多个差异表达蛋白,S100A9 在卵巢癌患者血浆中的高表达经免疫印迹和酶联免疫吸附试验进一步证实。提示血浆中 S100A9 的表达可以作为早期诊断卵巢癌的辅助指标。

2. S100A9 在卵巢癌治疗及疗效中的意义: L'espérance 等采用含 21000 基因的基因芯片技术,研究 6 例进展期上皮性卵巢癌患者接受铂类和紫杉醇联合化疗前后差异表达的基因,发现化疗后包括 S100A9 在内的 121 个基因表达上调,化疗后 S100A9 基因的表达高于化疗前 3.74 倍,但 S100A9 对卵巢癌化疗药物的影响尚待进一步研究。

四、S100A8 在外阴癌中的表达及其临床意义

Kowalewska 等采用基因芯片技术筛选有前哨淋巴结和腹股沟淋巴结转移的外阴鳞状细胞癌患者与无淋巴结转移患者的差异基因,发现淋巴结转移阳性组中包括 S100A8 在内的 7 个基因的表达明显高于淋巴结转移阴性组,其中 S100A8 的表达水平在淋巴结转移组中高于无淋巴结转移组 10 倍多。但是,COX 比例风险分析未发现 S100A8 在外阴癌中的表达与腹股沟淋巴结的复发相关。迄今为止,尚未见检索到在阴道癌、输卵管癌、恶性滋养细胞肿瘤中研究 S100A8 或者 S100A9 表达的报道。

参考文献

- 1 Vogl T, Gharibyan AL, Morozova - Roche LA. Pro - inflammatory S100A8 and S100A9 proteins: self - assembly into multifunctional native and amyloid complexes[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(3): 2893 - 2917
- 2 Srikrishna G. S100A8 and S100A9: new insights into their roles in malignancy[J]. *J Innate Immun*, 2012, 4(1): 31 - 40
- 3 Choi YW, Kim YW, Bae SM, et al. Identification of differentially expressed genes using annealing control primer - based GeneFishing in human squamous cell cervical carcinoma[J]. *Clin Oncol (R Coll Ra-*

- diol), 2007, 19(5): 308 - 318
- 4 Qin F, Song Y, Li Z, et al. S100A8/A9 induces apoptosis and inhibits metastasis of CasKi human cervical cancer cells[J]. *Pathol Oncol Res*, 2010, 16(3): 353 - 360
- 5 Chao A, Wang TH, Lee YS, et al. Molecular characterization of adenocarcinoma and squamous carcinoma of the uterine cervix using microarray analysis of gene expression[J]. *Int J Cancer*, 2006, 119(1): 91 - 98
- 6 Zhu X, Lv J, Yu L, et al. Proteomic identification of differentially - expressed proteins in squamous cervical cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 112(1): 248 - 256
- 7 Zhu H, Wu TC, Chen WQ, et al. Roles of galectin - 7 and S100A9 in cervical squamous carcinoma: clinicopathological and in vitro evidence[J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(5): 1051 - 1059
- 8 Koskimaa HM, Kurvinen K, Costa S, et al. Molecular markers implicating early malignant events in cervical carcinogenesis[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(8): 2003 - 2012
- 9 Zhu X, Jin L, Zou S, et al. Immunohistochemical expression of RAGE and its ligand (S100A9) in cervical lesions[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2013, [Epub ahead of print]
- 10 Jin L, Shen Q, Ding S, et al. Immunohistochemical expression of Annexin A2 and S100A proteins in patients with bulky stage IB - IIA cervical cancer treated with neoadjuvant chemotherapy[J]. *Gynecol Oncol*, 2012, 126(1): 140 - 146
- 11 Tugizov S, Berline J, Herrera R, et al. Inhibition of human papillomavirus type 16 E7 phosphorylation by the S100 MRP - 8/14 protein complex[J]. *Virol*, 2005, 79(2): 1099 - 1129
- 12 Zhu H, Pei HP, Zeng S, et al. Profiling protein markers associated with the sensitivity to concurrent chemoradiotherapy in human cervical carcinoma[J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(8): 3969 - 3976
- 13 Guo J, Yang EC, Desouza L, et al. A strategy for high - resolution protein identification in surface - enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry: calgranulin A and chaperonin 10 as protein markers for endometrial carcinoma[J]. *Proteomics*, 2005, 5(7): 1953 - 1966
- 14 马爱荣, 崔竹梅, 戴淑真, 等. S100 在子宫内膜癌中的表达及其意义[J]. *齐鲁医学杂志*, 2004, 19(6): 477 - 480
- 15 黄带发, 林朝胜, 富伟能, 等. RNA 干扰抑制 S100A8 基因表达对 Hec - 1B 细胞凋亡及体外药敏的影响[J]. *中国肿瘤临床*, 2008, 35(8): 441 - 444
- 16 Cortesi L, Rossi E, Della Casa L, et al. Protein expression patterns associated with advanced stage ovarian cancer[J]. *Electrophoresis*, 2011, 32(15): 1992 - 2003
- 17 Ott HW, Lindner H, Sarg B, et al. Calgranulins in cystic fluid and serum from patients with ovarian carcinomas[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(21): 7507 - 7514
- 18 Shield - Artin KL, Bailey MJ, Oliva K, et al. Identification of ovarian cancer - associated proteins in symptomatic women: a novel method for semi - quantitative plasma proteomics[J]. *Proteomics Clin Appl*, 2012, 6(3 - 4): 170 - 181

(收稿日期:2013 - 03 - 20)

(修回日期:2013 - 04 - 08)