

细胞分化相关基因在宫颈癌中的研究进展

陈苗苗 吴 均 朱雪琼

宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤,在全球妇女中发病率仅低于乳腺癌,且近年来其发病有年轻化趋势^[1]。大量研究表明宫颈癌的发生与癌细胞的异常增殖有关。除了细胞的异常增殖外,细胞分化水平的改变也是细胞癌变的关键步骤。因此,肿瘤发生过程中细胞分化水平的改变引起了越来越多学者们的关注。本文就细胞分化相关基因在宫颈癌发生发展、早期诊断、转移和预后等方面的研究进展进行综述。

一、Nanog 基因

Nanog 基因位于人染色体 12p13.31。在早期发育的胚胎、胚胎生殖细胞、胚胎瘤细胞中均可检测到 Nanog 基因的表达,但在分化的胚胎干细胞或成体细胞中却未见其表达^[2],提示 Nanog 基因的表达可使细胞维持在未分化状态。相对于纯合子,具有杂合子 Nanog(+/-)的胚胎干细胞更趋向分化,推测 Nanog 的表达量决定了胚胎干细胞的分化情况。在口腔鳞癌、乳腺癌、胶质癌、膀胱癌等恶性肿瘤中,Nanog 的表达均与癌细胞的分化程度呈负相关^[3]。

Mak 等^[4]发现在包括宫颈鳞癌、子宫内膜癌等的妇科恶性肿瘤中,Nanog 均为过表达,认为多能性转录因子 Nanog 基因的异常表达引起了肿瘤干细胞的自我增殖,导致了妇科癌症的发生。Ye 等^[5]采用免疫组化法研究了正常宫颈组织、宫颈上皮内瘤变 I~III 级及宫颈鳞癌组织中 Nanog 的表达,发现 Nanog 的表达量随宫颈病变的严重程度而增加。Gu 等^[6]研究发现,在正常宫颈组织中,Nanog 主要表达于细胞核,但在人宫颈鳞癌细胞 SiHa、C-33A,宫颈腺癌细胞 HeLa 和宫颈鳞癌组织中,Nanog 主要表达于细胞质。对 95 例宫颈组织的分析结果显示,在宫颈鳞癌的进展中,Nanog 表现出细胞穿梭行为,同时其在间质中的表达明显增加,间质中 Nanog 的染色随宫颈病变的进展而增加,从正常宫颈组织中的表达率为 25.9%(7/27),逐渐增加到宫颈上皮内瘤变中的 61.9%

(13/21),在宫颈鳞癌中的 93.6%(44/47)。宫颈癌间质中细胞胞质 Nanog 阳性的细胞为间充质干细胞,这些间充质干细胞不管是在体内还是体外实验均被证实会促进宫颈癌的进展,但未指明宫颈癌的类型。邹琪等^[7]发现宫颈上皮内瘤变 III 级和宫颈鳞癌中 Nanog 蛋白的表达显著高于正常宫颈组织。同时发现,在宫颈鳞癌组织中,Nanog 的表达与癌细胞的分化水平负相关。

二、Sox2 基因

Sox 是一类与性别决定基因相关,含有高度保守的 HMGbox 的转录因子家族,它决定着细胞的命运和分化。Sox2 是 Sox 家族成员之一,位于人染色体 3q26.3。Sox2 主要表达于胚胎干细胞和胚胎瘤细胞,但当这些细胞趋向于分化时,其表达量明显下调,这些表达模式提示 Sox2 在维持干细胞的自我更新能力和未分化状态方面发挥了重要的作用。近年来,许多研究发现鳞状细胞癌的发生发展与 Sox2 基因的扩增和过表达相关,而且高水平的 Sox2 往往提示癌症患者的不良预后^[8]。

Ji 等^[9]报道,与正常宫颈组织相比,Sox2 蛋白在宫颈鳞癌和宫颈上皮内瘤变 III 细胞核中的表达量明显升高,其表达量与宫颈鳞癌的分化程度相关,未分化宫颈鳞癌中的表达 > 中分化宫颈鳞癌 > 高分化宫颈鳞癌,而且从新鲜宫颈鳞癌组织分离出来的肿瘤细胞可检测到 Sox2 的表达,但在分化的肿瘤细胞中却未检测到其表达;进一步研究发现,无论是体外还是体内实验均证实外源性地增加 Sox2 的表达会促进细胞的生长、增殖和致瘤性,其机制可能是 Sox2 促进了细胞周期由 G₁ 期向 S 期转变。蔡春芳等^[10]研究结果也表明,随着宫颈病变的进展,细胞质中 Sox2 的阳性表达率呈递增趋势。同时,Sox2 蛋白表达水平与宫颈癌病理组织分级及淋巴结转移呈正相关。顾晓荔等^[11]同样发现细胞质中 Sox2 蛋白的表达在宫颈鳞癌中 > 宫颈上皮内瘤变 > 正常宫颈组织,低分化宫颈鳞癌组织中 Sox2 蛋白的阳性表达率 > 中分化 > 高分化。然而,有淋巴结转移的宫颈鳞癌组织中 Sox2

基金项目:浙江省卫生高层次创新人才基金资助项目(2010-21)

作者单位:325027 温州医学院附属第二医院

通讯作者:朱雪琼,电子邮箱:zjwzzxq@163.com

的阳性表达率虽然高于无淋巴结转移的鳞癌组织,但两组间的差异无统计学意义。未检索到 Sox2 与宫颈腺癌相关的报道。

三、Hes1 和 Hes5 基因

Hes(hairy and enhancer - of - split homologues) 基因是含碱性螺旋 - 环 - 螺旋结构的转录因子,包括 Hes1 ~ 7。其中, Hes1 和 Hes5 通过 Notch - Hes - Hash 信号转导通路抑制细胞分化和促进干细胞的存活^[12]。无论是 Hes1 或是 Hes5 的异常表达都会影响细胞增殖和分化之间的平衡, Hes1 和 Hes5 基因可通过调节细胞分化的能力参与恶性肿瘤的发生发展。

Hes1 和 Hes5 基因与宫颈癌发生发展的关系, Liu 等^[13]采用免疫组化的方法检测正常宫颈上皮、宫颈上皮内瘤变和宫颈鳞状细胞癌中 Hes1 及 Hes5 蛋白的表达水平,发现宫颈病变越严重, Hes1 及 Hes5 的表达越强;同时对 73 例早期宫颈鳞癌患者中 Hes1 和 Hes5 的表达与临床病理因素的关系进行研究,发现其表达量在病灶直径 > 2cm、淋巴结转移阳性、低分化和间质浸润深的宫颈鳞癌中均明显增高,认为 Hes1 和 Hes5 过表达可以辅助预测早期宫颈鳞癌的不良预后。该课题组进一步采用 RNA 干扰技术分别沉默宫颈鳞癌 SiHa 细胞中 Hes1、Hes5 基因,发现 Hes1 和 Hes5 基因分别沉默后, Notch - Hes - Hash 通路的下游基因 Hash1 表达水平显著升高,而上游基因 Notch1 表达水平无明显改变,并且 Hes1 和 Hes5 RNA 干扰后,分化相关蛋白(包括 Nanog、SSEA - 4 和 TRA - 1 - 60)表达减少,而 Nanog、SSEA - 4 和 TRA - 1 - 60 蛋白是细胞未分化的标志,同时增殖相关蛋白(如 Ki - 67、PCNA)的表达也减少,提示 Hes1 和 Hes5 基因的下调可抑制宫颈鳞癌细胞的增殖,并可能通过 Hash1 基因抑制宫颈鳞癌细胞的分化^[14]。

四、NDRG1 基因

N - myc 下游调节基因 1 (N - myc downstream regulated gene - 1, NDRG1) 为与细胞分化相关的基因,因受 N - myc 抑制而得名。在人体大多数器官中均能检测到 NDRG1 mRNA 的表达,但主要高表达于前列腺、卵巢、结肠和肾脏^[15]。NDRG1 蛋白主要定位于上皮组织的细胞质中,偶见在细胞核中表达。

马少飞等^[16]发现从正常宫颈到宫颈鳞癌的发生发展过程中, NDRG1 蛋白的表达随宫颈病变的进展而逐渐降低。在 24 例无淋巴结转移的宫颈鳞癌组织中有 17 例(70.8%) NDRG1 蛋白表达阳性,而伴有淋巴结转移组的阳性表达率仅为 27.8%(5/18),并采

用反转录聚合酶链反应(RT - PCR)进一步证实 NDRG1 mRNA 的表达在淋巴结转移组也是明显低于无转移组,推测 NDRG1 可能是肿瘤转移抑制基因。然而 Song 等^[17]采用基因芯片分析正常宫颈、宫颈上皮内瘤变和侵袭性宫颈癌的差异表达基因时,却发现包括 NDRG1 在内的 22 个基因在侵袭性宫颈癌中的表达明显上调。因该研究没有明确交代宫颈癌的病理类型,可能由于病理类型不一致导致 NDRG1 mRNA 在宫颈癌中的表达水平不一致。

Nishio 等^[18]认为 NDRG1 的高表达与宫颈腺癌的血管生成活跃以及其他一些不良预后因素有关,例如肿瘤直径 > 40mm、间质浸润 > 2/3、淋巴血管浸润、淋巴结转移、低分化等。同时,生存率估算分析结果显示 NDRG1 高表达患者的无进展生存期和总体生存期降低。但是,大部分学者认为 NDRG1 抑制宫颈癌的发生发展。王静等^[19]用特异性质粒 pEGFP - N1 - NDRG1 - GFP 转染 SiHa 细胞,采用四甲基偶氮唑蓝比色法和侵袭小室实验分别检测转染后细胞的增殖能力和侵袭转移能力,发现 SiHa 细胞的增殖速度减慢,细胞的侵袭和转移能力降低,提示上调 NDRG1 的表达水平可抑制宫颈癌细胞的生长、侵袭和转移。也有研究发现在宫颈鳞癌 CaSki 细胞中,敲除 NDRG1 基因可以增加 CaSki 细胞的黏附、转移和侵袭能力^[20]。耿晓星等通过体外实验证实,随着三氧化二砷和全反式维甲酸浓度的增加,人宫颈腺癌 HeLa 细胞中 NDRG1 mRNA 和蛋白的表达均逐渐上调,同时,对 HeLa 细胞的生长抑制率增高,提示三氧化二砷和全反式维甲酸可能是通过上调 NDRG1 来达到抗肿瘤的作用。

五、Plexin D1 基因

Plexin D1 属于高度保守的单向跨膜受体家族 Plexins,它是 Sema3E 的跨膜受体。Plexin D1 与 Sema3E 结合,参与一系列的生物过程,包括腺体分支形态发生,血管生成的调控,肿瘤的生长和转移以及器官发生过程中细胞的增殖、分化和存活。在健康成人中, Plexin D1 只在很少的器官中低水平表达,但是在许多肿瘤的恶性细胞和脉管系统中,其表达显著增加。

关于宫颈癌中 Plexin D1 的表达, Shalaby 等报道, Plexin D1 在宫颈鳞癌中的表达明显高于正常宫颈组织,且与宫颈鳞癌的分化相关,分化程度越低,表达越强。同时发现,在宫颈鳞癌组织的血管中 Plexin D1 高表达,而在正常宫颈组织的血管中未见 Plexin

D1 表达,推测 Plexin D1 在宫颈鳞癌相关的血管形成过程和分化中起着重要的作用。

六、S100A9 基因

S100A9 属于钙结合蛋白家族,通常与 S100A8 结合形成特殊的异二聚体,它们在正常上皮细胞中低表达,而在活化角蛋白细胞的增殖和分化过程中表达上调。S100A9 与第二信使之之一的钙离子结合,参与细胞的增殖、分化、迁移、黏附及信号转导等一系列生物过程,它位于人染色体 1q21,而这个区域在肿瘤中经常缺失、易位或者重叠,因此推测它可能参与肿瘤的恶变。在甲状腺癌、肺腺癌、肝癌、乳腺癌等恶性肿瘤中 S100A9 的表达与低分化相关。

有研究发现,S100A9 的表达从正常宫颈组织到宫颈上皮内瘤变到宫颈鳞癌逐渐降低。但是,Chao 等通过 cDNA 微阵列检测到包括 S100A9 在内的 25 个基因在宫颈鳞癌组织中的表达明显高于癌旁正常组织,且进一步采用实时定量聚合酶链反应技术及免疫组化分别证实了 S100A9 mRNA 和蛋白在宫颈鳞癌中的高表达。Koskimaa 等发现,S100A9 在宫颈上皮内瘤变中过表达,其表达量与宫颈上皮内瘤变的级别呈正相关,而且从宫颈上皮内瘤变 I ~ III, S100A9 的表达模式也发生改变。随宫颈上皮内瘤变级别增高,S100A9 的表达从中层向表层细胞延伸,在细胞核中的表达量逐渐升高。在笔者的前期研究中,采用蛋白质组学技术检测正常宫颈组织和宫颈鳞癌的差异蛋白时,发现在宫颈鳞癌中 S100A9 的表达量较癌旁正常组织明显上调。进一步研究发现,从正常宫颈上皮、宫颈上皮内瘤变到宫颈鳞癌 S100A9 的表达量逐渐增高,尤其在高分化宫颈鳞癌中表达最强,提示 S100A9 参与宫颈鳞癌的癌变过程,且与宫颈鳞癌的组织分化相关。

Qin 等用 S100A8/S100A9 处理人宫颈鳞癌细胞 CaSki,采用流式细胞仪检测细胞凋亡率,同时用划痕修复实验来检测细胞的侵袭能力,发现用 S100A8/S100A9 处理过的细胞凋亡率明显升高,细胞划痕修复能力明显减弱,表明 S100A8/S100A9 能抑制 CaSki 细胞的侵袭和转移能力,并能通过增加细胞凋亡来抑制 CaSki 细胞的生长。Zhu 等用多因素 Cox 比例风险回归分析宫颈鳞癌的预后相关因素,发现 S100A9 阳性者的 5 年生存率明显高于 S100A9 阴性者。采用蛋白质组学技术分析鉴定对同步放化疗不同敏感度的 II B ~ VIA 期宫颈鳞癌中差异表达蛋白,Zhu 等发现在高敏感组中 S100A9 表达水平高于低敏感组,该

差异表达经免疫组化证实。笔者前期对 68 例 I B ~ II A 期巨块型的宫颈鳞癌患者进行研究,发现 S100A9 在以顺铂为基础的新辅助化疗后的宫颈鳞癌组织中表达增加,其在化疗敏感组的表达水平明显高于不敏感组,认为 S100A9 可作为新辅助化疗前预测化疗疗效的指标。未检索到 S100A9 与宫颈腺癌相关的报道。

综上所述,宫颈癌的发生是多因素、多步骤的过程,细胞分化相关基因在宫颈癌变的发生发展中起着重要的作用。深入研究这些基因,将有利于进一步揭示宫颈癌的发病机制,为宫颈癌的早期诊断、治疗疗效、预后评价和指导开发新的抗肿瘤药物提供新思路。但上述基因与宫颈腺癌相关的报道较少,还需更多深入的研究。

参考文献

- 1 杨蓉,江维,李隆玉,等. 5577 例子宫颈癌住院病例分析 [J]. 中华妇产科杂志, 2010, 45(5): 386-387
- 2 Theunissen TW, Silva JC. Switching on pluripotency: a perspective on the biological requirement of Nanog [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2011, 366(1575): 2222-2229
- 3 Chiou SH, Yu CC, Huang CY, *et al.* Positive correlations of Oct-4 and Nanog in oral cancer stem-like cells and high-grade oral squamous cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(13): 4085-4095
- 4 Mak VC, Siu MK, Wong OG, *et al.* Dysregulated stemness-related genes in gynecological malignancies [J]. Histo Histopathol, 2012, 27(9): 1121-1130
- 5 Ye F, Zhou C, Cheng Q, *et al.* Stem-cell-abundant proteins Nanog, nucleostemin and musashi1 are highly expressed in malignant cervical epithelial cells [J]. BMC Cancer, 2008, 18(8): 108
- 6 Gu TT, Liu SY, Zheng PS. Cytoplasmic NANOG-positive stromal cells promote human cervical cancer progression [J]. Am J Pathol, 2012, 181(2): 652-661
- 7 邹琪,万丽娟,康馥莉,等. NANOG 基因在宫颈癌组织中的表达及意义 [J]. 山西医科大学学报, 2012, 43(8): 575-577
- 8 Liu K, Lin B, Zhao M, *et al.* The multiple roles for Sox2 in stem cell maintenance and tumorigenesis [J]. Cell Signal, 2013, 25(5): 1264-1271
- 9 Ji J, Zheng PS. Expression of Sox2 in human cervical carcinogenesis [J]. Hum Pathol, 2010, 41(10): 1438-1447
- 10 蔡春芳,谭国胜,俞奇,等. 转录因子 SOX2 在宫颈上皮内瘤样病变及宫颈癌中的表达及临床意义 [J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(1): 128-130
- 11 顾晓荔,孟跃进,廖予妹,等. 宫颈癌组织中 Sox-2 的表达变化及意义 [J]. 河南外科学杂志, 2013, 19(1): 57-59
- 12 Guu J, Shimizu R, D'Altri T, *et al.* Hes repressors are essential regulators of hematopoietic stem cell development downstream of Notch signaling [J]. J Exp Med, 2013, 210(1): 71-84

- 13 Liu J, Ye F, Chen H, *et al.* Expression of differentiation associated protein Hes1 and Hes5 in cervical squamous carcinoma and its precursors [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2007, 17(6): 1293 – 1299
- 14 Liu J, Lu WG, Ye F, *et al.* Hes1/Hes5 Gene Inhibits Differentiation via Down – Regulating Hash1 and Promotes Proliferation in Cervical Carcinoma Cells [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2010, 20(7): 1109 – 1116
- 15 Liu W, Xing F, Iizumi – Gairani M, *et al.* N – myc downstream regulated gene 1 modulates Wnt – β – catenin signalling and pleiotropically suppresses metastasis [J]. *EMBO Mol Med*, 2012, 4(2): 93 – 108
- 16 马少飞, 陈嘉薇, 祝峰. NDRG1 基因与宫颈鳞癌发生发展及转移的关系[J]. *肿瘤*, 2008, 28(3): 238 – 241
- 17 Song JY, Lee JK, Lee NW, *et al.* Microarray analysis of normal cervix, carcinoma in situ, and invasive cervical cancer: identification of candidate genes in pathogenesis of invasion in cervical cancer [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2008, 18(5): 1051 – 1059
- 18 Nishio S, Ushijima K, Tsuda N, *et al.* Cap43/NDRG1/Drg – 1 is a molecular target for angiogenesis and a prognostic indicator in cervical adenocarcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2008, 264(1): 36 – 43
- 19 王静, 蔡晶, 李智敏, 等. NDRG1 在宫颈癌中的表达及其生物学特性和调节机制的研究 [J]. *华中科技大学学报 · 医学版*, 2010, 30(6): 771 – 776
- 20 Zhao G, Chen J, Deng Y, *et al.* Identification of NDRG1 – regulated genes associated with invasive potential in cervical and ovarian cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 408(1): 154 – 159
- (收稿日期:2013 – 05 – 06)
(修回日期:2013 – 06 – 25)

HCV 入侵机制及其对机体免疫系统的影响

王 萍 董艳迎 韩玲娜 李晓丽 刘小静

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染是引起肝脏疾病的一个重要病因。HCV 感染面广,呈全世界分布,根据 WHO 统计目前在世界范围内有 1.5 亿人感染 HCV,并且发展中国家高于发达国家,其中我国的慢性感染率约占总人口的 3.2%。HCV 感染机体后,即可表现为急性肝炎,也可表现为慢性携带状态或者慢性活动性肝炎,甚至重型肝炎。HCV 感染极易慢性化并可发展为肝硬化,与原发性肝细胞癌有密切关系。只有 15% ~ 20% 的新感染个体能成功的清除病毒,其余均发展成慢性感染患者^[1]。HCV 能在机体中持续存在归结于它能有效的逃避机体免疫系统的监视。目前研究认为,丙型肝炎患者影响疾病进程与治疗的因素较多,尚缺乏特效药物和预防疫苗。因此进一步了解 HCV 是如何入侵进入宿主细胞以及 HCV 是如何影响机体获得性免疫系统,能有利于发展新的抗 HCV 病毒治疗方案。

一、HCV 入侵进入宿主细胞

目前的研究认为病毒要进入宿主细胞需要具备以下几个条件:(1)细胞表达 CD81:CD81 是 1 个膜蛋白,包含 4 个跨膜区和 2 个细胞外环状结构。CD81 能在多种细胞如肝细胞和 B 淋巴细胞膜表面

表达,其作用主要参与免疫系统和神经系统中不同细胞间的相互作用,以及参与细胞间的融合。研究发现 HCV 的胞膜蛋白 E2 能结合 CD81,具体结合部位是 CD81 的细胞外环状结构。使用重组 CD81 分子或者使用 CD81 的抗体能明显阻止 HCV 进入宿主细胞, HCV 对敲出 CD81 的肝细胞感染也不敏感^[2]。对于 E2 蛋白来说,其 W420, Y527, W529, G530 和 D535 等保守序列是重要的 CD81 结合位点,如果这些位点发生突变,将影响病毒进入宿主细胞^[3]。研究还发现利用分泌型 E2 蛋白的细胞外功能区域,能结合 CD81 分子,能阻止 HCV 进入细胞内,另外还能使 HCV 慢性感染患者产生识别 HCV 的抗体^[4]。这些研究充分说明了 CD81 对于 HCV 进入宿主细胞来说是必要的。(2)清道夫受体 B1 (scavenger receptor class B type 1, SR – B1):SR – BI 是高密度脂蛋白(HDL)的主要受体,能介导 HDL – 胆固醇的吸收。目前的研究认为 SR – BI 是介导 HCV 进入细胞的一个重要因素,它能够与 E2 糖蛋白结合从而辅助 CD81 介导 HCV 进入宿主细胞^[5]。Murao 等^[6]研究发现,当使用 IFN – α 时,能通过活化 STAT1/STAT2 途径,从而抑制肝细胞表达 SR – B1,抑制 HCV 进入宿主细胞,这就说明 SR – B1 的表达与 HCV 进入细胞有关,IFN – α 可以通过抑制 SR – B1 的表达而起到抗病毒的作用。(3)CLDN1 和 occludin:对于 HCV 进入宿主细胞

作者单位:712061 西安交通大学(王萍、董艳迎、韩玲娜、李晓丽、刘小静);712046 咸阳,陕西中医学院(王萍)

通讯作者:刘小静,电子信箱:xiaojing406@163.com