

恶性卵巢肿瘤淋巴转移与相关基因表达

杨月琴 李继承*

(浙江大学细胞生物学研究所, 杭州 310031)

摘要 恶性卵巢肿瘤严重威胁着妇女健康和生命, 其重要原因之一是易发生淋巴转移, 给临床诊断和治疗带来困难。近年来国内外对恶性卵巢肿瘤淋巴转移的机制及其与相关基因表达进行了一系列的研究, 现就这方面的进展作一综述。

关键词 恶性卵巢肿瘤; 淋巴转移; 基因

恶性卵巢肿瘤(malignant ovarian tumors, MOTs)是最常见的妇科恶性肿瘤, 也是妇科恶性肿瘤患者死亡的主要原因之一。癌细胞的浸润与转移对患者的生命和健康构成严重威胁, 而淋巴转移又是其扩散的主要途径, 其中涉及到一系列相关基因突变, 导致肿瘤淋巴转移的抑制基因与激活基因的失衡。对 MOTs 的淋巴转移相关基因的研究, 已成为近年来学者们关注的焦点。

1 Nometastatic gene 23

Nometastatic gene 23 (*nm23*)是一种肿瘤转移抑制基因^[1], 定位于染色体 17q21.3, 属于多基因家族包括 *nm23-H1*、*nm23-H2*、*nm23-H4*、*nm23-H5* 等多个基因。它们的 DNA 序列有高度的同源性, 编码的蛋白质产物具有二磷酸核苷酸激酶(NDPK)活性^[2], 参与微管的聚合和分解, 影响细胞骨架状态, 进而影响细胞的运动、细胞黏附、信号转导、转录调节和增殖分化调控等。研究已证明 *nm23* 表达能降低肿瘤转移能力。对正常卵巢、卵巢癌及其配对淋巴结组织进行 *nm23-H1* 的 mRNA 表达检测, 结果显示其表达水平随着卵巢癌转移的发生而降低^[3], 表达水平与表达率的分析说明 *nm23-H1* 的表达与卵巢癌淋巴结转移呈负相关。对卵巢上皮性肿瘤 *nm23-H1* 基因遗传不稳定性^[4]的研究中, 结果显示在卵巢上皮性癌中, *nm23-H1* 蛋白阳性率在淋巴转移组显著低于无淋巴转移组, 在 FIGO III + IV 组显著低于 I + II 组, 可见 *nm23-H1* 蛋白表达可抑制 MOTs 的淋巴转移, 并预示着良好的预后。此外, LOH 阳性组中 *nm23-H1* 蛋白阳性率显著低于 LOH 阴性组, 提示 LOH 可能抑制卵巢上皮性癌局部 *nm23-H1* 蛋白的表达。对 50 例卵巢癌组织研究表明^[5],

nm23 基因表达与组织类型、分化程度、分期及 CA-125 无关, 提示 *nm23* 基因可作为卵巢癌独立的预后指标。*nm23H1* 高表达是卵巢癌患者预后好的指标之一^[6]。

2 Metastasis associated 1, MTA1

1994 年应用差异 cDNA 杂交技术, 从 13762F 大鼠乳腺癌转移系统筛选克隆出的肿瘤转移相关基因 *mta1*^[7], 随后在人类高转移乳腺癌细胞株中, 发现 *mta1* 相关序列 *MTA1*。*mta1/MTA1* 基因的 cDNA 全长为 2.8 kb, 编码 703 个氨基酸、分子量为 80 kDa 的磷蛋白。*MTA1* 基因产物的确切功能尚不清楚, 其蛋白质基团存在有对酪氨酸激酶、蛋白激酶 C、蛋白激酶 II 的 7 个磷酸化位点, 羧基末端有 SH3 结合位点, 蛋白质结构尚发现锌指 DNA 结合元件序列, 提示 *MTA1* 蛋白可能是通过参与信号转导与基因表达, 调控一系列有关侵袭转移蛋白质而起重要作用。一些研究表明 *MTA1* 高表达促进肿瘤浸润转移, 实验抑制 *MTA1* 蛋白表达可导致 *MTA1* 基因高表达的转移性乳腺癌细胞出现生长抑制。对人食管癌、胃癌、肠癌中 *MTA1* 的 mRNA 表达水平的检测结果^[8,9]表明 *MTA1* 蛋白与肿瘤浸润转移呈正相关。近年来 *MTA1* 在卵巢肿瘤转移方面的研究也有报道。对卵巢癌及淋巴结转移的研究结果^[4]表明, *MTA1 mRNA* 的表达水平, 随着卵巢癌淋巴转移的发生而增高, 结合相对光密度值与表达率的概率分析, 说明 *MTA1 mRNA* 表达水平与卵巢癌的淋巴结转移呈正相关, 并认为 *MTA1 mRNA* 的高表达可能是评价卵巢癌恶性程度的潜在指标。*MTA1* 强表达

收稿日期: 2006-02-15 接受日期: 2006-06-14

* 通讯作者。Tel: 0571-87217451, E-mail: lijichen@zju.edu.cn

能增强肿瘤的侵袭转移能力,并能诱发癌基因 *Bcl-x1* 的表达,最终导致一系列的转移行为,如迁移,侵袭等^[10]。抗 *MTA1* 基因的反义寡核苷酸可以抑制高表达 *MTA1* mRNA 的癌细胞发生转移,并呈剂量依赖性关系^[11]。

3 *c-myc* 基因

c-myc 是 *myc* 癌基因家族中最重要的一员,人类 *c-myc* 原癌基因定位于染色体 8q24 区,由 3 个外显子和 2 个内含子组成。第 1 外显子是转录调控区,第 2、3 外显子是翻译区,共同编码相对分子质量为 65 kDa 的蛋白质,为核转录调节因子,在细胞周期、细胞增殖、分化、凋亡、肿瘤发生、转移等生理病理过程中发挥重要作用。*c-myc* 可以表现多种形式的激活,特别是基因扩增,由此表达高水平的 mRNA 而产生大量的 *c-myc* 蛋白,从而影响细胞的生长繁殖与分化。*c-myc* 基因在上皮性卵巢癌中表达显著高于正常卵巢组织,并认为 *c-myc* 基因的表达是肿瘤发生途径中的重要过程^[12]。*c-myc* 的扩增与肿瘤的发生与转归密切相关,用 Southern 杂交研究肌肉瘤和骨肉瘤结果,仅显示有 *c-myc* 基因的扩增而无重排,且有基因扩增者二年存活率明显低于无扩增者^[13]。最近研究提示 *c-myc* 基因的扩增与卵巢肿瘤淋巴转移有关。采用 PCR 及激光扫描技术对不同临床分期、病理分化程度及淋巴转移情况的卵巢癌进行 *c-myc* 基因扩增检测,结果显示卵巢癌 *c-myc* 扩增率 47%,癌旁组织 40%,正常组织未有扩增,而有淋巴结转移者的全部扩增,说明卵巢癌发生发展中,*c-myc* 基因的扩增是一个主要机制,而且 *c-myc* 基因的扩增与淋巴转移程度和病理分化程度有关,与病理分型无关,揭示 *c-myc* 基因的扩增与卵巢癌淋巴转移及预后相关。

4 *fas/fas L*

fas 属于肿瘤坏死因子受体(TNFR)超家族成员,*fas* 基因位于人染色体 10q23 上,长 5 kb,编码出的 *fas* 抗原为 I 型跨膜糖蛋白,分子量为 45 kDa,有一段含 80 个氨基酸的序列,称为死亡功能区(FADD),与细胞凋亡信号的转导有关。*fas L* 属于肿瘤坏死因子(TNF)家族,其基因定位于人染色体 1q23 上,长 8 kb,编码的 *fas L* 为 II 型跨膜糖蛋白,分子量为 40 kDa。*fas/fas L* 分布广泛,如:心、肝、肾、生殖细胞及 T、NK 细胞等。*fas/*

fas L 结合后可转导凋亡信号,通过激活 FADD,再活化 caspase-8,然后激活其蛋白水解酶,引发凋亡相关因子白介素-1 β 转换酶(ICE)及其家族成员的级联反应,引起细胞凋亡。研究表明,肿瘤细胞通过 *fas/fas L* 系统攻击免疫细胞,逃避免疫监视,开辟发展空间,表现较强的浸润转移能力。*fas* 分子达到一定的水平,就启动 *fas/fas L* 的凋亡诱导系统^[14]。MOTs 细胞通过表达无功能的 *fas* 或不表达 *fas*,抵抗细胞毒性 T 淋巴细胞表面的 *fas L* 介导凋亡,逃避免疫攻击^[15];再者癌细胞表达有功能的 *fas L*,并激活 T 细胞对 *fas* 介导的细胞凋亡敏感,诱导局部淋巴细胞及正常细胞的凋亡^[16]。用流式细胞术检测卵巢癌组织中 *fas* 和 *fas L* 的表达,发现在卵巢癌组织中存在 *fas* 表达的下调及 *fas L* 的高表达,且 *fas L* 表达随组织学分级的升高而增加,有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者,证实了 *fas L* 高表达的卵巢癌侵袭性较强,预后较差^[17]。因此,利用恢复肿瘤细胞对 *fas* 介导的凋亡敏感性或阻断 *fas* 介导的 T 细胞杀伤作用,可以作为 MOTs 免疫治疗的新思路。

5 E-钙黏着蛋白基因

E-钙黏着蛋白基因(*E-cad*)^[18]是一种肿瘤转移抑制基因,位于 16q22.1,编码产物是一分子量为 120 kDa 的跨膜糖蛋白,表达在所有上皮组织中,在细胞外 Ca²⁺ 的参与下介导同种亲和性细胞间的黏附,其作用主要有:介导上皮细胞黏附,形成中间连接,维持组织结构完整,维持细胞极性参与细胞分化。肿瘤浸润早期必不可少的步骤是瘤细胞自原发灶脱落,侵袭转移性增加。已有研究表明 E-钙黏着蛋白基因介导的细胞黏附系统的损害是细胞恶变的一个特点,并有多项研究表明 E-钙黏着蛋白基因是一肿瘤浸润抑制因子。E-钙黏着蛋白基因的表达减少常伴肿瘤的去分化,浸润性增加、淋巴结转移并与预后相关,而表达正常者预后较好,这在头颈部鳞状细胞癌、胃癌、肾癌、乳腺癌、膀胱癌中均得到证实^[19]。在卵巢肿瘤淋巴转移方面近年也有报道。检测原发灶和转移灶卵巢癌组织中 E-钙黏着蛋白水平结果显示,转移灶中 E-钙黏着蛋白表达水平明显低于原发灶组织^[20]。对原发性和腹膜后淋巴转移性卵巢癌,进行 E-钙黏着蛋白表达检测结果显示,在高分化卵巢癌 E-钙黏着蛋白的表达明显高于中/低分化者,且腹膜淋巴转移性卵巢癌表达明显

低于原发卵巢癌。该结果提示 E-钙黏着蛋白基因在肿瘤腹膜后淋巴转移过程中起重要作用^[21]。对正常卵巢、卵巢癌及其配对淋巴结组织 E-钙黏着蛋白表达进行检测, 无转移卵巢癌原发灶 E-钙黏着蛋白表达阳性率为 46.2%, 而有转移者均无表达, 差异显著($P=0.044$), 说明 E-钙黏着蛋白的表达与卵巢癌淋巴结转移呈负相关^[4]。

6 p21 基因

p21 也称野生型 p53 激活片段 1, 即 WAF1/CIP1, 于 1993 年被首次克隆, 定位于人 6p21-2, 由 3 个外显子组成, 编码由 164 个氨基酸组成的蛋白质, 分子量为 21 kDa。p21 蛋白是细胞周期依赖激酶抑制因子, 其基本功能为通过抑制细胞周期依赖激酶(CKD)活性阻碍 DNA 受损细胞由 G₁ 期进入 S 期, 或者通过使增殖细胞核抗原(PCNA)失活而停止 DNA 合成, 从而修复细胞。p21 在正常情况下充当肿瘤抑制基因。p21 与肿瘤分化类型, 浸润深度, 淋巴结和肝脏转移相关, p21 阳性表达者具有较好的预后^[22]。对 59 例卵巢上皮性肿瘤及 11 例正常卵巢组织中 P21 蛋白的表达进行对比研究^[23], 结果显示, p21 蛋白在上皮性卵巢癌中表达下调, 且与肿瘤分化程度、淋巴转移及患者的预后有关, 它的缺失可能影响整个卵巢癌的发生和发展过程。p21 的低表达与癌患者的低预后有关^[24]。p21 对肿瘤的生长有明显的抑制作用^[25], 其表达的缺失可能意味着肿瘤的迅速生长, 有可能成为估计肿瘤恶性程度及预后的新指标, 应用于临床卵巢肿瘤恶性程度及预后判断有重要意义。

7 周期素(cyclin)D1 基因

周期素 D1 基因定位于染色体 11q13, 长度为 120 kb, 编码 295 个氨基酸构成的蛋白质, 是一类在细胞周期中含量呈周期性变化的细胞周期调节蛋白, 过度表达可缩短 G₁ 期, 导致 DNA 修复障碍及细胞增殖周期加快, 引起基因组不稳定及部分癌基因扩增。周期素 D1 过度表达存在于多种人类肿瘤, 目前研究表明周期素 D1 基因结构异常普遍存在各种肿瘤中, 包括基因扩增, 染色体倒位, 染色体异位及 mRNA 过度表达。近年有关周期素 D1 基因在卵巢肿瘤中的作用也有报道, 有学者研究了 100 例卵巢上皮性肿瘤组织中周期素 D1 的表达情况, 结果显示周期素 D1 在卵巢良性、交界性、恶

性肿瘤中的表达差异显著, 表达率随临床分期的增高而增高, 在有淋巴结转移的患者中, 周期素 D1 阳性表达率显著高于无转移者, 并具有统计学意义^[26]。应用蛋白质免疫印迹技术研究周期素 D1 表达与卵巢癌转移相关性, 结果发现癌组织中周期素 D1 蛋白表达率明显高于非癌组织, 并与卵巢癌肿瘤转移相关^[27]。周期素 D1 基因在 70 例上皮性卵巢癌患者的预后作用的研究中, 发现高表达周期素 D1 的患者术后生存期短, 认为周期素 D1 的高表达与卵巢癌的高侵袭性和差的预后显著相关^[28]。可见, 周期素 D1 的过度表达, 在卵巢肿瘤的发生、发展过程中起作用, 与卵巢癌的临床分期、淋巴结转移有关, 通过检测卵巢肿瘤组织中的周期素 D1 的表达可用来预测肿瘤患者的预后。

8 小结

除上述几种基因与 MOTs 的淋巴转移相关以外, 还有一些因子, 如 VEGF、COX-2、端粒和端粒酶等在 MOTs 淋巴转移过程中也都有一定作用, 在此不作阐述。除此之外, PCNA、p53、p16 等因子虽然在不同淋巴转移程度的卵巢癌组织中也出现差异性表达, 但是否与卵巢淋巴转移有关, 仍存有争议。总之, MOTs 淋巴转移的发生和基因表达的关系相当复杂, 目前虽对其有一定认识, 但未完全明了。因此揭示 MOTs 淋巴转移与基因表达的关系, 为防止转移的发生及对转移病灶的治疗提供理论基础, 仍然是个艰巨的课题。

参考文献 (References)

- [1] Steeg PS et al. *J Natl Cancer Inst*, 1988, **80**: 200
- [2] Venturelli D et al. *Exp Cell Res*, 2000, **257**: 265
- [3] Yi S et al. *Chin Med Sci J*, 2003, **18**: 87
- [4] 杨月琴等. *实验生物学报*, 2005, **38**: 233
- [5] Tas F et al. *Am J Clin Oncol*, 2002, **25**: 164
- [6] Galani E et al. *Anticancer Res*, 2002, **22**: 2275
- [7] Toh Y et al. *Gene*, 1995, **159**: 97
- [8] Toh Y et al. *Int J Cancer*, 1997, **74**: 459
- [9] Toh Y et al. *Br J Cancer*, 1999, **79**: 1723
- [10] Mahoney MG et al. *Oncogene*, 2002, **21**: 2161
- [11] Nicolson GL et al. *Clin Exp Metastasis*, 2003, **20**: 19
- [12] Chen CH et al. *Int J Gynecol Cancer*, 2005, **15**: 878
- [13] Spencer CA et al. *Adv Cancer Res*, 1991, **56**: 1
- [14] Cui H et al. *Cell Immunol*, 1996, **167**: 302
- [15] Das H et al. *Br J Cancer*, 2000, **82**: 1682
- [16] Munakata S et al. *Br J Cancer*, 2000, **82**: 1446
- [17] 刘培淑等. *山东大学学报(医学版)*, 2002, **40**: 152
- [18] Bex G et al. *Genomics*, 1995, **26**: 281

- [19] Cabbert HE *et al. Int J Cancer*, 1996, **69**: 184
[20] Davidson B *et al. J Pathol*, 2000, **192**: 460
[21] Fujioka T *et al. Oncol Rep*, 2001, **8**: 249
[22] Ikeguchi M *et al. Dig Dis Sci*, 1998, **43**: 964
[23] 曹兰琴等。湖南医科大学学报, 1998, **23**: 602
[24] Bali A *et al. Clin Cancer Res*, 2004, **10**: 5168
[25] Ferrandina G *et al. Int J Oncol*, 2000, **17**: 1231
[26] 段亚辉等。山西临床医药杂志, 2002, **11**: 413
[27] 郑美莲等。中国免疫学杂志, 2005, **21**: 501
[28] Barbieri F *et al. Oncology*, 2004, **66**: 310

The Correlation between Lymphatic Metastasis and Gene Expression in Malignant Ovarian Tumors

Yue-Qin Yang, Ji-Cheng Li*

(Institute of Cell Biology, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

Abstract The malignant ovarian tumors have threatened the women's health and lives severely. One of the most important reasons is that it could easily transfer by lymphatic metastasis, which results in difficulties in clinical diagnosis and treatment. A series of research about the mechanism of lymphatic metastasis and its correlation with the gene expression have been done in recent years, and now we review them in the article.

Key words malignant ovarian tumors; lymphatic metastasis; gene

Received: February 15, 2006

Accepted: June 14, 2006

*Corresponding author. Tel: 86-571-87217451, E-mail: lijichen@zju.edu.cn