

文章编号: 1004-0374(2013)01-0063-05

抑癌基因甲基化与宫颈癌的关系

符策岗, 汪磊, 宋银宏*

(三峡大学医学院, 宜昌 443002)

摘要: 肿瘤抑制基因启动子甲基化是表观遗传学改变的类型之一, 与人类多种肿瘤相关。近年来的研究表明, P16^{INK4a}、RASSF1A、APC、DAPK、E-cadherin、Syk、FHIT 及 FANCF 等肿瘤抑制基因启动子甲基化导致其在宫颈肿瘤中表达下降, 甚至缺失, 这在宫颈癌发生、发展的过程中扮演着重要的角色。肿瘤抑制基因启动子甲基化为研究宫颈癌的发生机制、宫颈癌的筛查及治疗提供了新思路。就近年来对与宫颈肿瘤发生及发展密切相关的一些抑癌基因甲基化的研究做一简要综述。

关键词: 宫颈癌; 抑癌基因; 甲基化

中图分类号: Q756; R394.3; R737.33 **文献标志码:** A

The relationship between methylation of tumor suppressor genes and cervical carcinogenesis

FU Ce-Gang, WANG Lei, SONG Yin-Hong*

(Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: The promoters' methylation of tumor suppressor genes (TSGs) is one kind of changes in epigenetics, which is concerned closely with multiple human tumors. Recent studies have shown that in cervical cancer tissues, the expression of TSGs such as P16^{INK4a}, RASSF1A, APC, DAPK, E-cadherin, Syk, FHIT and FANCF is decreased or even absent, owing to their promoters' methylation, which plays critical roles in cervical cancer carcinogenesis and progression. Furthermore, the phenomenon of TSGs' methylation affords us a new idea to study the mechanism of the carcinogenesis as well as the screen and therapy of cervical cancer. This review summarized recent advances in the studies of the promoters' methylation of some TSGs, which have a close relationship with cancer carcinogenesis and progression.

Key words: cervical cancer; tumor suppressor gene; methylation

宫颈癌是常见妇科恶性肿瘤之一, 其发病率在女性恶性肿瘤中仅次于乳腺癌, 在发展中国家则居首位, 严重威胁女性生命健康, 其发生、发展经历了由量变到质变、渐变到突变的连续发展的过程。因此, 对宫颈癌早期进行及时高效的筛查和正确处理是减少宫颈癌发生的关键。DNA 甲基化可能导致肿瘤中抑癌基因表达下降, 甚至缺失, 是肿瘤发生、发展的重要原因之一, 其机制是在 DNA 甲基转移酶的作用下, 将活性甲基从 S-腺苷甲硫氨酸转移至胞嘧啶的第 5 位碳原子上, 形成 5-甲基胞嘧啶的化学修饰过程, 甲基化主要发生在启动子区 CpG 岛^[1]。DNA 甲基化在基因表达调控, 细胞增殖、

分化、发育等方面起重要作用, 与肿瘤的发生和演进有密切联系。本文就与宫颈癌发生及发展密切相关的一些抑癌基因的甲基化研究做一综述(表 1)。

1 P16^{INK4a} 基因甲基化与宫颈癌的关系

P16^{INK4a} 基因又称多瘤抑制因子, 是第一个发

收稿日期: 2012-07-18; 修回日期: 2012-08-07

基金项目: 湖北省教育厅科学研究计划项目(Q20-121306); 三峡大学博士启动基金(KJ2010B047); 三峡大学大学生科技创新基金(2011XGK011)

*通信作者: E-mail: syh728@126.com; Tel:0717-6397590

表1 宫颈癌中抑癌基因的甲基化状况

基因名称	基因功能	甲基化程度	参考文献
P16 ^{INK4a}	阻滞细胞周期	28.2%~59.1%	[1-5]
RASSF1A	影响细胞周期及促进凋亡	20%~73.8%	[6-8]
APC	Wnt/ β -catenin信号通路的主要成份	56.8%~65%	[9-11]
DAPK	促进细胞凋亡及抑制肿瘤转移	63.3%~65.4%	[12-14]
E-cadherin	介导细胞黏附	40%~47.36%	[2, 15-17]
Syk	抑制肿瘤侵袭和转移	57%	[18-20]
FHIT	阻滞细胞周期及诱导凋亡	53.33%~100%	[21-23]
FANCF	FA-BRCA信号通路的重要蛋白	23.1%~30%	[24-26]

现的直接参与细胞周期调控的抑癌基因, 其产物 P16^{INK4a} 蛋白与细胞周期素 D(cyclin D) 竞争性地结合周期蛋白依赖性激酶 (cyclin dependent kinase, CDK)4 和 6, 并特异性抑制 CDK4 和 CDK6 激酶的活性, 阻止细胞由 G1 期进入 S 期, 抑制细胞增殖^[1]。Attaleb 等^[2] 在 22 例宫颈癌患者组织标本中检测到 P16^{INK4a} 启动子区 CPG 岛的甲基化率高达 59.1%。Yang 等^[3] 对 85 例宫颈癌组织和 40 例预处理的宫颈癌患者的外周血样本进行研究, 结果显示, 28.2% 的宫颈癌组织标本和 10% 的外周血标本均有 P16^{INK4a} 甲基化, 并证明了存在 P16^{INK4a} 甲基化的宫颈癌患者的血液中有 33.3% 可检测出 P16^{INK4a} 甲基化现象, 为 P16^{INK4a} 甲基化的检测提供了新方式。Furtado 等^[4] 研究发现, 27 例宫颈上皮内瘤变 (CIN) 组织标本和 20 例正常组织标本中 P16^{INK4a} 甲基化率分别为 55.6% 和 20%, 两者之间有显著性差异。最近国际妇女联合会在对 126 例宫颈癌放射治疗患者的历时 5 年的回顾性研究中发现, 对比 P16^{INK4a} 表达阳性与 P16^{INK4a} 表达阴性的患者, 其生存率分别为 63% 和 33%, 复发率为 34% 和 57%, 可见 P16^{INK4a} 表达会对宫颈癌放射治疗预后产生一定影响^[5]。上述研究表明, P16^{INK4a} 启动子区甲基化是 P16^{INK4a} 基因失活的原因之一, 且其表达和宫颈癌的发展及预后均密切相关。

2 RASSF1A基因甲基化与宫颈癌的关系

Ras 相关区域家族 1A (ras association domain family 1A, RASSF1A) 是 2000 年发现的新型候选抑癌基因。崔华英等^[6] 检测了 65 例宫颈癌患者的癌组织和癌旁组织, 发现两者中 RASSF1A 基因甲基化率分别为 73.8% 和 6.2%, 并且检测到宫颈鳞癌、腺癌和腺鳞癌 RASSF1A 基因启动子甲基化率分别为 82.0%、40.0% 和 60.0%, 三者间差异有统计学意义,

RASS-F1A 基因启动子甲基化与宫颈癌的型别紧密相关。Pan 等^[7] 报道, 65 例宫颈癌和 40 例正常宫颈上皮组织样本中 RASSF1A 基因启动子甲基化率分别为 20% 和 0%, 其中无淋巴道转移的宫颈癌患者的组织样本中 RASSF1A 基因甲基化率为 15%, 而有淋巴道转移的组织样本中 RASSF1A 基因甲基化率为 32%, 可见 RASSF1A 基因甲基化与宫颈癌的发生及发展相关。有关 RASSF1A 的确切作用机制目前尚不明确, 可能是通过影响细胞周期发展、促进细胞凋亡及抗微管解聚等发挥抑制肿瘤细胞生长及转移的作用^[8]。甲基化的 RASSF1A 基因不能正常表达, 从而失去了对细胞的正常生长调节作用, 使细胞发生恶变, 进而癌变成为肿瘤, 是宫颈癌发病机制之一。

3 APC基因甲基化与宫颈癌的关系

腺瘤性结肠息肉病 (adenomatous polyposis coli, APC) 基因是 1986 年发现的抑癌基因, 是 Wnt/ β -连环蛋白 (Wnt/ β -catenin) 信号转导途径的一个主要成份, 其启动子区 CpG 岛甲基化可使 APC 基因转录失活而致 APC 蛋白表达缺失, 如果 APC 蛋白缺失, 则不能和 β -连环蛋白结合, 累积的 β -连环蛋白转位到细胞核与 T 细胞因子结合成复合体, 启动增殖相关基因 (如 *c-myc*) 转录, 最终导致细胞生长失控^[9]。陈勇等^[10] 发现 95 例宫颈癌标本 APC 基因启动子甲基化阳性率为 56.8%, 且与临床病理类型、肿块大小、淋巴结转移有关。乔玉环等^[11] 发现正常宫颈组织中未检测到 APC 基因甲基化现象, 而宫颈鳞癌组织中 APC 基因甲基化阳性率为 65%, 且不同临床分期的宫颈癌的甲基化阳性率差异有统计学意义。Song 和 Zhang^[9] 发现宫颈癌细胞系 HeLa 和 CasKi 中, APC 基因启动子存在着甲基化现象, 用去甲基化试剂使 APC 基因去甲基化并重新表达

能抑制人宫颈癌细胞的生长。这些研究结果表明, APC 基因启动子区异常甲基化在宫颈癌中频繁发生, 可能参与了宫颈癌的发生发展, 并且去甲基化使 APC 基因恢复表达, 为宫颈癌治疗提供了新的思路。

4 DAPK基因甲基化与宫颈癌的关系

死亡相关蛋白激酶 (death-associated protein kinase, DAPK) 是一种相对分子质量为 1.6×10^5 的钙调蛋白调节的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 是凋亡的正性调节因子, 而凋亡与肿瘤的发生、发展、转移密切相关。Zhao 等^[12] 对 52 例宫颈癌、60 例 CIN 和 20 例正常宫颈上皮进行研究, 发现正常宫颈组织不存在 DAPK 基因甲基化, 而 CIN 和宫颈癌中甲基化率分别为 18.3% 和 65.4%, 提示 DAPK 启动子甲基化和宫颈癌的发展呈正相关。Niyazi 等^[13] 发现在正常宫颈组织、CINI、CINII/CINIII 及侵袭性宫颈鳞癌中, DAPK 基因甲基化率及 DAPK 蛋白的阳性率分别为 3.33%、10%、36.7%、63.3% 和 93.3%、83.3%、60.0%、33.3%, DAPK 基因甲基化率和 DAPK 蛋白的阳性率呈负相关。Iliopoulos 等^[14] 报道, 在 115 例宫颈癌标本中, 包括正常宫颈组织、癌前病变的非典型鳞状上皮细胞 (ASCUS)、低度鳞状上皮瘤变 (LGSIL)、高度鳞状上皮瘤变 (HGSIL) 和癌症标本中, 发现 DAPK 启动子甲基化水平与宫颈癌发展程度呈正相关, 再次验证 DAPK 启动子甲基化与 DAPK 基因失活和宫颈癌进程密切相关。综上所述, DAPK 启动子 CpG 岛甲基化可导致基因失活, 并可能参与宫颈癌的发生和发展。

5 上皮型钙黏素基因甲基化与宫颈癌的关系

上皮型钙黏素 (E-cadherin) 是钙依赖性上皮细胞黏附分子, 在维持上皮细胞形态和结构完整性方面起着重要的作用, 是重要的抑癌基因之一。其基因的失活会导致细胞间黏附力下降, 这与肿瘤的发生、发展和转移密切相关^[15]。Attaleb 等^[2] 研究发现, 在宫颈癌样本中 E-cadherin 基因 CpG 区超甲基化的比率达到 45.5%。Chen 等^[16] 检测 5 种宫颈癌细胞系和 20 例宫颈癌组织时发现, 全部的宫颈癌细胞系和 40% 的宫颈癌组织标本中都发现了 E-cadherin 启动子超甲基化现象, 其中, 在 5 种细胞系中有 3 种有 E-cadherin 蛋白表达的缺失, 而在宫颈癌组织中, E-cadherin 蛋白表达的缺失率达到 75%。最近 Pathak 等^[17] 报道, 在鳞状上皮内瘤变 (SIL) 及宫颈癌标本中, E-cadherin 基因甲基化率分别为 22.22%

和 47.36%, 远高于正常宫颈组织中的 2.85%, 可将之作为评价宫颈癌危险率的一个潜在的生物标记。由上述研究可知, E-cadherin 基因的甲基化与宫颈癌的发生、发展及转移也可能有十分紧密的关联。

6 Syk基因甲基化与宫颈癌的关系

人脾酪氨酸激酶基因 (spleen tyrosine kinase, Syk) 表达一种非受体型蛋白酪氨酸激酶, 与 T 细胞活化中的 ZAP-70 属于同一个蛋白酪氨酸激酶 (PTK) 家族, 其功能的失调会导致肿瘤的发生, 并与肿瘤侵袭和转移相关。Bailet 等^[18] 报道, 在黑素瘤细胞中 Syk 表达缺失与 Syk 启动子区 CpG 岛甲基化相关。Ogane 等^[19] 发现, 在所研究的口腔鳞癌细胞系中均存在 Syk 表达下调, 且与 Syk 启动子区高甲基化相关, 并且在 62% 的口腔鳞癌标本中检测到 Syk 表达下调, 与肿瘤的转移呈正相关。因此, 也可探究 Syk 基因甲基化与宫颈癌的发生是否存在潜在关系。Zhao 等^[20] 研究了 20 例正常组织标本、50 例 CIN 组织和 60 例宫颈癌组织中 Syk 基因的甲基化状态及 Syk 基因的表达, 发现 Syk 在正常宫颈组织及所有的 18 例 CIN I 样品中无异常甲基化现象, 且均有表达; 28% 的 CIN II/III 的样品中有启动子甲基化现象, 只有 56% 的样品表达; 57% 的宫颈癌组织中存在 Syk 基因的甲基化, 并且只有 35% 的组织有相应基因的表达。这表明 Syk 的甲基化状态及表达缺失与宫颈癌的发生发展有着潜在的联系。

7 抑癌基因FHIT甲基化与宫颈癌的关系

脆性组氨酸三联体基因 (fragile histidine triad, FHIT) 其编码的蛋白质具有二腺苷三磷酸 (diadenosine triphosphates, Ap_3A) 水解酶的特性, 可通过水解脂蛋白 A (ApoA) 阻止细胞生长信号转导途径, 使细胞周期阻滞, 并诱导细胞凋亡, 从而抑制细胞的生长。另外, FHIT 还可能与 Ap_3A 等结合成 FHIT-底物复合物 (可能是一种信号物质), 其抑癌作用可能比其水解酶作用更重要^[21]。Ren 等^[22] 检测了 30 例患者的宫颈癌组织中 FHIT 基因 5' 端 CpG 岛的甲基化状态, 发现在宫颈癌组织中 FHIT 基因 5' 端 CpG 岛的甲基化率为 53.33%, 而对照中均未检测到。Ki 等^[23] 研究表明, 25.9% 的宫颈癌组织标本中 FHIT 基因下调, 100% 的宫颈癌组织中检测到了 FHIT 基因有异常的启动子甲基化现象, 并发现 CpG 位点甲基化和 FHIT 低表达显著相关, 但基因表达的降低和临床病理特征之间没有发现显著的相

关性。上述结果表明了 FHIT 基因甲基化和宫颈癌的发生发展存在着一定的联系。

8 FANCF基因甲基化与宫颈癌关系

范可尼贫血相关基因 F (fanconi anemia complementation group F, FANCF) 的发现始于对范可尼贫血 (fanconi anemia, FA) 的研究, 发现此基因参与 FA 复合物的稳定及范可尼贫血相关基因 D2 (fanconi anemia complementation group D2, FANCFD2) 的泛素化激活过程, 是维持 FA-BRCA 通路 (DNA 损伤代偿修复途径) 功能所必需的重要蛋白^[24]。Narayan 等^[25]报道, 在 91 例原发性宫颈癌中, 发现有 21 例存在 FANCF 基因启动子超甲基化现象, 而在正常宫颈组织中未发现; 在 9 种宫颈癌细胞系中检测到 3 种有 FANCF 基因超甲基化现象, 分析表明, FANCF 基因启动子超甲基化现象在 <45 岁的患者中与宫颈癌的发生发展有相关性。李敏和王泽华^[26]亦发现在宫颈癌细胞中, 30% 存在 FANCF 基因启动子甲基化, 60% 的 FANCF 表达降低可能与甲基化相关。上述相关研究均提示 FANCF 基因的甲基化与宫颈癌的发展有着十分紧密的联系。

9 展望

宫颈癌是危及妇女健康的头号杀手之一, 现有研究已表明, 由于基因启动子甲基化导致一些抑癌基因表达减少或者缺失与宫颈癌的发生发展密切相关, 因此, 可以将这些抑癌基因的甲基化作为一个有效的筛查宫颈癌的标志, 并可以协助对宫颈癌进行早期诊断和预后。另外, 在宫颈癌的治疗方面, 临床上惯用的治疗方法仍然是手术、放疗及化疗, 这些治疗副作用较大, 并不是所有患者都适应, 所以找到新型的、副作用小的治疗方式是当今研究的重点。随着表观遗传学的深入研究, 现在已发现了一批具有去甲基化效果的药物可以通过去甲基化恢复抑癌基因表达, 从而在一定程度上抑制肿瘤的发生及发展。因此, 通过更加深入的研究, 查明抑癌基因的甲基化与宫颈癌的关系, 则可以为宫颈癌的治疗开辟出新的途径。

[参 考 文 献]

- [1] Feinberg AP, Tycko B. The history of cancer epigenetic. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(2): 143-53
- [2] Attaleb M, El hamadani W, Khyatti M, et al. Status of p16^(INK4a) and E-cadherin gene promoter methylation in Moroccan patients with cervical carcinoma. *Oncol Res*, 2009, 18(4): 185-92
- [3] Yang HJ, Liu VW, Wang Y, et al. Detection of hypermethylated genes in tumor and plasma of cervical cancer patients. *Gynecol Oncol*, 2004, 93(2): 435-40
- [4] Furtado YL, Almeida G, Lattario F, et al. The presence of methylation of the p16INK4A gene and human papillomavirus in high-grade cervical squamous intraepithelial lesions. *Diagn Mol Pathol*, 2010, 19(1): 15-9
- [5] Schwarz JK, Lewis JS Jr, Pfeifer J, et al. Prognostic significance of p16 expression in advanced cervical cancer treated with definitive radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012, 84(1): 153-7
- [6] 崔华英, 周栩茹, 韩庆, 等. 宫颈癌RAS相关区域家族1A基因启动子甲基化检测及临床意义研究. *中国全科医学*, 2011, 14(5B): 1529-31
- [7] Pan Z, Li J, Pan X, et al. Methylation of the RASSF1A gene promoter in Uigur women with cervical squamous cell carcinoma. *Tumori*, 2009, 95(1): 76-80
- [8] Richter AM, Pfeifer GP, Dammann RH. The RASSF proteins in cancer: from epigenetic silencing to functional characterization. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1796(2): 114-28
- [9] Song Y, Zhang C. Hydralazine inhibits human cervical cancer cell growth *in vitro* in association with APC demethylation and re-expression. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 63(4): 605-13
- [10] 陈勇, 陈双郎, 张春莲, 等. 宫颈癌APC基因启动子甲基化与其临床病理特征的关系. *中国癌症杂志*, 2009, 19(10): 755-60
- [11] 乔玉环, 赵晓丽, 刘红彦. 宫颈癌组织中APC基因启动子区甲基化的初步研究. *现代妇产科进展*, 2010, 19(10): 744-6
- [12] Zhao XL, Meng ZY, Qiao YH, et al. Promoter methylation of DAPK gene in cervical carcinoma. *Chn J Cancer*, 2008, 27(9): 919-23
- [13] Niyazi M, Liu XW, Zhu KC. Death-associated protein kinase promoter (DAPK) hypermethylation in uterine cervical cancer and intraepithelial neoplasia in Uyghur nationality women. *Chn J Oncol*, 2012, 34(1): 31-4
- [14] Iliopoulos D, Oikonomou P, Messinis I, et al. Correlation of promoter hypermethylation in hTERT, DAPK and MGMT genes with cervical oncogenesis progression. *Oncol Rep*, 2009, 22(1): 199-204
- [15] van Roy F, Berx G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(23): 3756-88
- [16] Chen CL, Liu SS, Ip SM, et al. E-cadherin expression is silenced by DNA methylation in cervical cancer cell lines and tumours. *Eur J Cancer*, 2003, 39(4): 517-23
- [17] Pathak S, Bhatla N, Singh N. Cervical cancer pathogenesis is associated with one-carbon metabolism. *Mol Cell Biochem*, 2012, 369(1-2): 1-7
- [18] Baillet O, Fenouille N, Abbe P, et al. Spleen tyrosine kinase functions as a tumor suppressor in melanoma cells by inducing senescence-like growth arrest. *Cancer Res*, 2009, 69(7): 2748-56
- [19] Ogane S, Onda T, Takano N, et al. Spleen tyrosine kinase

- as a novel candidate tumor suppressor gene for human oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*, 2009, 124(11): 2651-7
- [20] Zhao S, Sun G, Tony PW, et al. Expression and methylation status of the Syk gene in cervical carcinoma. *Arch Gynecol Obstet*, 2011, 283(5):1113-9
- [21] Wali A. FHIT: Doubts are clear now. *Sci World J*, 2010, 10: 1142-51
- [22] Ren CC, Miao XH, Yang B, et al. Methylation status of the 5'CpG islands in FHIT gene in the plasma and tissues of cervical cancer patients. *Hereditas*, 2006, 28(9): 1061-6
- [23] Ki KD, Lee SK, Tong SY, et al. Role of 5'-CpG island hypermethylation of the FHIT gene in cervical carcinoma. *J Gynecol Oncol*, 2008, 19(2): 117-22
- [24] Iitman R, Gupta R, Brosh RM, et al. BRCA-FA pathway as a target for anti-tumor drugs. *Anticancer Agents Med Chem*, 2008, 8(4): 426-30
- [25] Narayan G, Arias-Pulido H, Nandula SV, et al. Promoter hypermethylation of FANCF: disruption of fanconi anemia-BRCA pathway in cervical cancer. *Cancer Res*, 2004, 64(9): 2994-7
- [26] 李敏, 王泽华. 人宫颈癌发生中FANCF表达缺陷与其外显子甲基化的关系. *重庆医科大学学报*, 2008, 33(4): 385-9