

肿瘤转移相关分子与鼻咽癌转移关系的研究进展

谭俞佳 综述,江青山 审核

(南华大学附属第一医院耳鼻喉科,湖南 衡阳 421001)

摘要: 鼻咽癌是国内头颈部发病率最高的肿瘤,早期症状不明显,远处转移是患者死亡的主要原因。恶性肿瘤的浸润、转移是一个连续而又复杂的过程,近年来,随着人类基因组学和蛋白质组学的发展,越来越多的与肿瘤转移相关的基因、蛋白及信号通路被人们所认识,这些与肿瘤转移相关的分子成为鼻咽癌研究者关注的热点,并不断探讨鼻咽癌转移相关的特异性分子标志,将为鼻咽癌的治疗提供新的思路。本文将讨论鼻咽癌转移的相关分子及其机制。

关键词: 鼻咽癌; 转移相关基因; 转移相关蛋白; miRNA

中图分类号: R739.6 **文献标识码:** A

鼻咽癌(carcinoma of nasopharynx, NPC)是国内高发肿瘤之一,从流行病学调查资料显示,广东、广西、湖南、福建、江西为世界鼻咽癌高发区;男性发病率约为女性的2~3倍,40~50岁是高发年龄组。鼻咽癌98%属低分化鳞状细胞癌,首选放射治疗,放疗5年生存率为50%左右^[1],局部复发与远处转移是主要死亡原因^[2],约60%的患者在确诊鼻咽癌时已发生淋巴结转移,导致治疗的失败。肿瘤的浸润、转移是连续而又复杂的过程,随着人类基因组计划的完成,吸引了众多的研究者从基因组学和蛋白质组学方面突破对鼻咽癌的传统认识,探索鼻咽癌转移的相关分子及其机制,从而改变治疗方式。

1 鼻咽癌转移相关基因

1.1 CD44 基因与鼻咽癌

CD44 基因位于人类11号染色体短臂(11p13),其编码产生的单链糖蛋白是一种重要的细胞粘附分子,在多种生理及病理进程中均发挥作用。免疫学研究发现,CD44 信号通路的激活会使细胞的形态发生变化,如出现伪足、使细胞运动能力增强等。近年来研究发现其与恶性肿瘤细胞的浸润与转移关系密切^[3]。CD44 在鼻咽癌组织中表达已得到证实。

王爽等^[4]发现高转移特性的鼻咽癌细胞中 CD44 的表达明显高于低转移特性的鼻咽癌细胞;利用带有 CD44 基因的脂质体转染低转移特性的鼻咽癌细胞,发现其转移能力明显增强,进一步发现其间质标志物基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的表达明显增高,表明 CD44 与鼻咽癌转移关系密切,且通过调控上皮细胞间质化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)进程影响鼻咽癌细胞的转移能力。因此,临床上检测 CD44 的表达,可以预测鼻咽癌细胞转移能力,从而预测患者的预后情况;通过靶向抑制 CD44,可以抑制 EMT 的进程,从而降低鼻咽癌的转移率,提高5年生存率。

1.2 EZH2 与鼻咽癌

EZH2 位于人染色体7q35,与胚胎发育、细胞分化、肿瘤干细胞的自我更新及多种恶性肿瘤的发病密切相关。其编码的蛋白可通过催化 DNA 甲基化来阻止转录子与启动子区结合,导致基因的沉默。多项研究表明其高表达可以促进癌细胞的浸润和转移。比较基因杂交技术(comparative genomic hybridization, CGH)证实此染色体区带可能存在与鼻咽癌转移相关的基因。

梁碧君等^[5]收集临床标本发现鼻咽癌组织中 EZH2 表达明显高于炎性组织;在细胞实验中发现具有高转移特性的鼻咽癌细胞中 EZH2 表达明显高于低转移特性的鼻咽癌细胞;临床随访资料分析发现高表达 EZH2 蛋白的鼻咽癌患者5年生存率明显低于低表达者。进一步实验证实 EZH2 的沉默使鼻咽癌细胞转移能力减弱,且上皮标志物的表达增高、

收稿日期:2014-07-31

作者简介:谭俞佳,硕士研究生,研究方向:耳鼻咽喉头颈肿瘤, E-mail:99552093@qq.com. 通讯作者江青山,副主任医师,副教授, 硕士研究生导师, E-mail:2365486131@qq.com.

间质标志物表达降低;而高表达则明显促进鼻咽癌细胞的转移,且上皮间质标志物的表达呈现相反的结果,表明 EZH2 可通过调控 EMT 来影响鼻咽癌的转移。因此,临床上也可将 EZH2 作为预测鼻咽癌患者预后情况的指标。且抑制 EZH2 可降低鼻咽癌的转移率。

1.3 THY1 与鼻咽癌

THY1 基因也称白细胞分化抗原 CD90,位于人染色体 11q22~23 区域,该区域与鼻咽癌密切相关。THY1 编码的蛋白质属于免疫球蛋白超家族中的一员,是一种高度糖基化的细胞表面糖蛋白。THY1 与机体免疫反应、细胞增殖、分化、细胞因子释放、血管生成及凋亡等细胞功能有重要关联。

Lung 等^[6]发现在鼻咽癌组织及细胞中 THY1 的表达明显低于正常组织与细胞,且 THY1 表达的缺失可能与其启动子高度甲基化有关。具有高转移特性的鼻咽癌细胞在转染 THY1 基因后,呈现出生长速度减慢及转移率降低的特点,表明 THY1 基因能够抑制鼻咽癌细胞的生长及转移,可作为鼻咽癌的一个候选抑癌基因。

1.4 NGX6 与鼻咽癌

鼻咽癌相关基因 6 (nasopharyngeal carcinoma associated gene 6,NGX6)是新的转移相关抑癌基因,可抑制肿瘤的增殖、侵袭和转移能力^[7]。目前研究已证实 NGX6 基因的表达可抑制鼻咽癌的增殖,侵袭和转移能力,其机制可能是通过调节多种肿瘤相关基因的表达,引起信号转导通路分子改变,在调控肿瘤细胞周期,肿瘤细胞粘附迁移及肿瘤血管生成等环节发挥重要作用。

吴静娴等^[8]发现在非转移鼻咽癌组织中 NGX6 表达高于转移鼻咽癌组织,其蛋白阳性表达率随 T 分期、N 分期的增高呈下降趋势;NGX6 蛋白的表达与鼻咽癌组织微淋巴管密度呈负相关性,由此推测 NGX6 抑制鼻咽癌组织淋巴管的生成而抑制其侵袭转移。随着抑癌基因 NGX6 在鼻咽癌发生发展,侵袭及转移中作用机制的逐步明确,NGX6 蛋白的检测可能在辅助鼻咽癌淋巴结转移的风险预测和预后判断方面发挥作用,并可能成为鼻咽癌基因治疗中新的靶点。

2 鼻咽癌转移相关分子

2.1 LMP1 与鼻咽癌

潜伏性膜蛋白 1 (latent membrane protein 1,

LMP1)是 EB 病毒基因组中发现的第一个能改变细胞形态的癌基因,与鼻咽癌的侵袭和转移密切相关。LMP1 的基因位于 EB 病毒基因组 U5-TR 区的 BN-LF-1 基因,由 386 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白^[9]。

LMP1 是 EB 病毒编码的主要致癌蛋白,其阳性表达是诱导鼻咽癌侵袭转移的重要因素。李刚等^[10]发现抑制 LMP1 的表达,则鼻咽癌细胞的增殖、转移能力减弱。Wang 等^[11]发现 LMP1 可通过激活 MEK/ERK1/2 和 JAK3 信号传导通路,活化 STAT3 结合位点,上调血管内皮生长因子的表达和分泌,为瘤细胞转移提供血管基础。还可通过激活 JAK/STAT、AP-1、NF- κ B、PI-PLC-PKC 等多条细胞内信号传导通路,促进鼻咽癌细胞的 EMT 进程,赋予鼻咽癌细胞高侵袭高转移能力;Liu 等^[12]则发现 LMP1 可上调鼻咽癌细胞 MMP9 的活性,促进 EMT 进程;阻断转录因子 e-Jun 和 Ets1 的表达,LMP1 对 MMP9 活性的诱导降低,表明了 e-Jun 和 Ets1 调控鼻咽癌 MMP9 的表达。申志华等^[13]研究认为 EBV-LMP1 可通过上调 Ezrin 的表达来介导对鼻咽癌转移能力的影响,Ezrin 蛋白可通过与 CD44 分子、E-钙粘素、整合素等细胞表面分子形成复合体,调节细胞粘附,参与肿瘤细胞信号转导。

2.2 VEGF 与鼻咽癌

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor,VEGF)是血管内皮细胞特异性肝素结合生长因子,是目前已知的作用最强、特异性最高的促血管生成因子。肿瘤转移与其诱导血管增生的能力关系密。肿瘤血管增生一方面促进了肿瘤组织生长,另一方面为肿瘤细胞转移提供了重要通路。已有研究显示 VEGF 与肿瘤的发生、发展、治疗及预后关系密切。

姜武忠等^[14]发现 VEGF 在鼻咽癌组织中的表达率高于炎性及正常鼻咽上皮组织;颈淋巴结转移的鼻咽癌组织中表达高于未转移组织;晚期鼻咽癌组织中表达显著高于早期鼻咽癌组织,表明 VEGF 的高表达与鼻咽癌的浸润发展及转移密切相关。孙军^[15]比较鼻咽癌放疗患者血清中 VEGF 发现,放疗前 VEGF 量高于正常人,放疗后 VEGF 减少,复发患者 VEGF 量较未复发者量多。它显示检测 VEGF 对预测鼻咽癌预后有一定的价值,可作为预后不良的指标之一。

2.3 PFK1 与鼻咽癌

6-磷酸果糖激酶-1 (6-phosphofructo-1-kinase, PFK1) 是糖酵解途径中的第二个限速酶, 是糖酵解途径三个限速酶中最重要的一个。近年来研究发现恶性肿瘤细胞中普遍存在糖酵解途径的增强, 而 PFK1 与恶性肿瘤关系密切, 在很多肿瘤组织中, PFK1 表达明显增强, 在肿瘤细胞的糖酵解和细胞增殖中起重要作用。

李烁等^[16]发现 PFK1 在鼻咽癌组织中表达高于鼻咽部炎性组织; 鼻咽癌淋巴结转移组织中表达高于未转移组织, 说明 PFK1 与鼻咽癌转移关系密切。PFK1 表达的增高促进了肿瘤组织中糖酵解比例的增高, 能够为肿瘤的侵袭和转移提供能量支持, 而糖酵解产生的酸性代谢产物可以破坏正常的细胞基质, 为侵袭和转移提供有利的环境。因此, PFK1 可能是鼻咽癌转移的分子标志之一。

3 微小 RNA 与鼻咽癌

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类编码长度为 17~25 个核苷酸组成的非编码单链 RNA 分子, 参与基因表达调控, 尤其在转录后调控中发挥重要作用。miRNA 能与下游靶基因 mRNA 的 3' UTR 碱基配对, 引导沉默复合物抑制 mRNA 的翻译或降解 mRNA, 这种特性使其参与生物合成和肿瘤的发展过程。在已注解的 miRNA 分子中, 有超过 50% 的 miRNA 定位于肿瘤相关基因位点, 说明 miRNA 在肿瘤的发生发展中起着至关重要的作用。很多研究表明, miRNA 在鼻咽癌组织和细胞中表达高于正常鼻咽上皮组织, 扮演了抑癌基因或原癌基因的角色, 并通过多种分子机制参与调控鼻咽癌的浸润与转移。它们极其可能成为未来鼻咽癌的生物标志物和治疗靶点。

Luo 等^[17]发现 miR-149 在鼻咽癌细胞中的表达明显高于正常鼻咽上皮细胞。miR-149 过表达能增强鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力; 反之, 抑制 miR-149 的表达则出现相反的结果。进一步实验研究发现, miR-149 能降低 E-钙粘蛋白的表达, 说明其可通过调节 EMT 在鼻咽癌的侵袭转移中发挥重要作用。

Li 等^[18]利用 miRNA 芯片筛选发现 miR-18a 在鼻咽癌组织中表达上调。Luo 等^[19]研究发现高表达 miR-18a 能促进鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭,

反之则降低。进一步研究发现 miR-18a 通过 Dicer1 促进鼻咽癌的发展。Dicer1 是 miRNA 合成酶的关键分子, 在 miRNA 合成过程中, Dicer1 控制成熟的 miRNA 合成。miR-18a 下调 Dicer1 的合成, 从而下调 miR-200 家族的表达, 而 miR-200 家族能调节 EMT 标志分子物的改变, 说明 miR-18a 的调控网络中包括促进 EMT 进程, 从而促进鼻咽癌的转移。

Zhang 等^[20]发现 miR-144 在鼻咽癌组织中表达上调, 实验发现沉默 miR-144 可以减少鼻咽癌细胞的增殖、侵袭和转移。进一步研究其作用机制发现, 它主要通过抑制磷酸酶及张力蛋白同源性基因 (phosphatase and tensin homolog, PTEN) 这一抑癌基因来增加磷酸化丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (pAKT) 和周期素 D1 向 G1 期转化, 并且通过降低 E-钙粘素促进 EMT 进程。

综上所述, 多种鼻咽癌转移相关分子参与了调控 EMT 进程, 且调控机制多样, 各种相关分子相互协同或制约, 构成错综复杂的调控网络。鼻咽癌的侵袭转移是一个复杂的过程, 对其相关分子的不断了解, 为肿瘤标记物的筛选及药物治疗靶点的选择成为可能; 也为治疗后转移风险的预测提供了更多的科学依据。但目前研究发现的鼻咽癌转移相关分子缺乏特异性, 难以应用于临床实践。因此, 进一步寻找特异性鼻咽癌转移相关分子标志物, 并深入探讨其作用机制仍是未来鼻咽癌防治研究的重点。

参考文献:

- [1] Fang FM, Chien CY, Tsai WL, et al. Quality of life and survival outcome for patients with nasopharyngeal carcinoma receiving three-dimensional conformal radiotherapy vs. Intensity-modulated radiotherapy-a longitudinal study [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008, 72 (2): 356-364.
- [2] 赵水喜, 王迎选, 崔书祥, 等. 442 例鼻咽癌放射治疗效果观察 [J]. *中国肿瘤临床*, 2004, 31 (10): 595-596.
- [3] Naor D, Nedvetzki S, Golan I, et al. CD44 in cancer [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2002, 39 (6): 527-579.
- [4] 王爽, 李仕晟, 谢鼎华, 等. CD44 调控鼻咽癌上皮-间质转化及转移的实验研究 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2013, (5): 250-254.
- [5] 梁碧君. EZH2 在鼻咽癌中的表达及其促进侵袭转移的实验研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2012: 45-50.
- [6] Lung HL, Cheung AK, Cheng Y, et al. Functional charac-

- terization of THY1 as a tumor suppressor gene with anti-invasive activity in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(2):304-312.
- [7] Wang L, Xiang B, Yi M, et al. Identification of a new seven-span transmembrane protein; NGX6a is downregulated in nasopharyngeal carcinoma and is associated with tumor metastasis [J]. *J Histochem Cytochem*, 2010, 58(1):41-51.
- [8] 吴静娴. NGX6 蛋白在鼻咽癌中的表达及其与 VEGF 表达和 LMVD 的相关性研究[D]. 上海:第二军医大学, 2009.
- [9] Repic AM, Shi M, Scott RS, et al. Augmented latent membrane protein 1 expression from Epstein-Barr virus episomes with minimal terminal repeats [J]. *J Virol*, 2010, 84(5):2236-2244.
- [10] 李刚, 李湘平, 刘雄, 等. DNA 载体介导 RNA 干扰抑制 LMP-1 基因对鼻咽癌细胞转移能力的影响 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2006, 28(10):724-727.
- [11] Wang Z, Luo F, Li L, et al. STAT3 activation induced by Epstein-Barr virus latent membrane protein1 causes vascular endothelial growth factor expression and cellular invasiveness via JAK3 And ERK signaling [J]. *Eur Cancer*, 2010, 46(16):2996-3006.
- [12] Liu WB. Latest advances in the study on the involvement Epstein - Barr virus encoded latent membrane protein 1 in nasopharyngeal carcinoma invasion and metastasis [J]. *Int J Pathol Clin Med*, 2010, 30(6):484-488.
- [13] Shen ZH, Chen XY, Chen J. Impact of up-regulating Ezrin expression by Epstein - Barr virus latent membrane protein 1 on metastasis ability of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Chinese Cancer*, 2008, 27(2):165-169.
- [14] 姜武忠, 赵素萍, 廖遇平, 等. 鼻咽癌组织中 LMP1 和 VEGF 蛋白表达及其临床意义 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2007, 13(3):173-177.
- [15] 孙军. 鼻咽癌患者放疗前后血清 IGF-Ⅱ、CEA 和 VEGF 检测的临床意义 [J]. *放射免疫学杂志*, 2012, 25(5):505-506.
- [16] 李烁, 杜政德, 高进良, 等. 鼻咽癌组织中 6-磷酸果糖激酶-1 基因的表达及临床意义 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014(06):393-395.
- [17] Luo ZH, Zhang LY, Li Z, et al. MiR149 promotes epithelial-mesenchymal transition and invasion in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Journal of central south university of technology*, 2011, 36(07):604-609.
- [18] Li T, Chen JX, Fu XP, et al. microRNA expression profiling of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(5):1353-1363.
- [19] Luo Z, Dai YZ, hang L, et al. miR-18a promotes malignant progression by impairing microRNA biogenesis in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(2):415-425.
- [20] Zhang LY, Ho-Fun Lee V, Wong AM, et al. MicroRNA-144 promotes cell proliferation, migration and invasion in nasopharyngeal carcinoma through repression of PTEN [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(2):454-463.

(此文编辑:朱雯霞)