

● 文献综述 ●

宫颈癌基础研究进展

张燕 肖纯

(江西中医学院病理教研室 南昌 330006)

摘要:分别从 HPV 感染、细胞凋亡、粘附分子、转化生长因子 β_1 等与宫颈癌的关系论述近年来宫颈癌研究在分子生物学方面所取得的进展。

关键词:宫颈癌;HPV;细胞凋亡;细胞粘附分子;综述

中图分类号:R 文献标识码: B 文章编号:1671-4040(2003)04-0066-03

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,目前认为其发病与早婚、性生活紊乱、性生活过早、密产、多产、经济状况、种族和地理环境等因素有关。近年来,随着分子生物学的发展,国内外对宫颈癌的研究已进入到了分子水平,并取得了较大的发展。

1 HPV 感染和宫颈癌变

1949 年 Sttauss 首先在电镜下于普通疣的浸出液中观察到 HPV 颗粒,自 1976 年 Zur Hausen 首次从宫颈癌组织中分离出 HPV_{16,18} 以来,至今已鉴定的 HPV 近 70 种类型,其中约 30 种与生殖道病变有关。HPV 是一组高度特异的 DNA 病毒,病毒核酸为双链环状 DNA,含有 8 000 碱基对,分为 3 个部分:晚期区、早期区和调节区。基于 HPV 对人体危害程度可分为高危型、低危型两类。低危型 HPV_{6,11} 常见于尖锐湿疣、良性增生性病变;高危型 HPV_{16,18,33},DNA 常常以单拷贝、多拷贝形式被整合入宿主细胞基因组,使细胞生活周期紊乱、基因突变,导致癌发生。有学者应用聚合酶链反应检测宫颈癌组织中 HPV_{16,18} 检出率明显升高^[1]。所以我们认为,宫颈癌的发生与乳头状瘤病毒 HPV 感染相关;

2 细胞凋亡与宫颈癌变

Kerr 于 1972 年首次提出细胞凋亡概念。凋亡是一种自然生理性细胞死亡,与坏死不同。它在胚胎发育、组织更新和维持机体的自身平衡状态方面起关键作用,凋亡细胞的多少与组织更新快慢呈正比^[2]。凋亡的形态学特征为凋亡小体,电泳时呈特征性梯状结构。细胞凋亡的检测方法有形态学观察、电泳、DNA 片段分析,酶学测定。目前应用较多的是 DNA 片段分析,有原位末端标记法(ISEL)、原位缺口平移法(INST)和末端脱氧核苷酸转移酶介导生物素化的 dUTP 切口末端标记法 (TUNEL)。其中以 Gavrielie 于 1992 年首次提出 TUNEL 法为最好,它可直接、灵敏地原位识别凋亡细胞^[3],并可采用石蜡切片进行回顾性研究,此法已成功显示小鼠胚胎、人类淋巴结和胃肠道肿瘤的凋亡细胞。

凋亡的相关因素:体外实验证实细胞凋亡受癌基因和抑癌基因调控,癌基因和抑癌基因表达异常可影响细胞凋亡。当前研究较多的有 c-myc 和 Bcl-2 癌基因,P₅₃ 和 Rb 抑癌基因。现简要分述如下:

Bcl-2 基因产物定位于线粒体膜、核膜和内质网膜上,具有保障细胞存在的特性。过量表达的 Bcl-2 蛋白可以维持线粒体膜电位梯度,防止线粒体破坏,增加肿瘤细胞对各种化疗药物和放射线的抵抗性^[4]。Bcl-2 抑制细胞凋亡的主要途径有:抑制活性氧对细胞的损害;调节 Ca²⁺ 流入细胞;影响线粒体膜的渗透性转换;调控凋亡执行蛋白 caspase 的激活因子,

如细胞色素 C 和凋亡诱导因子的释放;抑制 Apaf-1 与 caspase-9 的终止,阻止因后者活化触发的细胞凋亡^[5]。正常宫颈外口鳞状上皮的基底细胞、储备细胞和宫颈内口的柱状上皮细胞可有 Bcl-2 蛋白的表达,子宫颈上皮内瘤变 (CIN) III 级中 Bcl-2 蛋白的过表达率高于宫颈癌^[6]。采用 ⁶⁰Co 和顺铂处理体外培养的 3 株人宫颈癌细胞株,24h 后检测细胞凋亡和 Bcl-2。结果发现放射线 ⁶⁰Co 和顺铂均可以诱发宫颈癌细胞凋亡;它们都表达 Bcl-2,其表达率随着细胞凋亡的出现而下降。这表明 Bcl-2 的表达可能参与了宫颈癌细胞凋亡的调节过程。

野生型 P₅₃ 是一种抑癌基因,对细胞生长和分裂起负调节作用,其重要功能是阻止 DNA 受损的细胞进入细胞周期,从而保持基因组的完整性。突变型 P₅₃ 则刺激细胞分裂,发挥癌基因作用。研究结果显示:P₅₃ 阳性率、增殖细胞核抗原 (PCNA) 增殖指数、DNA 含量及倍体水平在正常宫颈粘膜、CIN 及宫颈癌各组织学分级中逐渐增高,表明 P₅₃ 蛋白异常及细胞增殖活性的增高和宫颈粘膜癌变的发生及恶性程度有关;P₅₃ 阳性率与 PCNA 增殖指数及 DNA 含量呈正相关,也反映了 P₅₃ 基因的表达异常使其丧失了对细胞生长的负调节作用,从而使细胞发生异常增殖。Mittal^[7]等的研究认为 P₅₃ 阳性表达频繁地出现于宫颈粘膜癌前病变,甚至良性病变,提示 P₅₃ 的阳性表达有早期诊断意义。

Rb 抑癌基因最初发现于视网膜母细胞瘤,有磷酸化和非磷酸化两种形式,其磷酸化作用随细胞周期而改变,Rb 抑癌基因对细胞增殖起负性调节作用。Wang 等^[8]报道在肌细胞分化中 Rb 不表达的肌细胞和肌小管发生凋亡的频率要高于 Rb 表达的肌细胞和肌小管,在 Rb 阴性条件下,CDK 抑制剂 P₂₁ 或 P₁₆ 也不能抑制凋亡,因此 Rb 基因通过抑制凋亡而对肌细胞分化生存起重要的作用。

Fas 抗原又称 APO-1 或 CD₉₅,是由 325 个氨基酸组成的 I 型膜蛋白,为细胞膜表面受体蛋白。Fas 抗体和 Fas-L(配体)与细胞表面 Fas 抗原结合后可诱导凋亡。Fas 介导的凋亡需要白介素 1 β 转化酶 (ICE) 参与,而 Fas 功能相关磷酸酶 (FAP-1) 则对 Fas 介导的凋亡起抑制作用。目前有关 Fas 介导凋亡的信号传递尚不清楚。Maccon 等^[9]实验发现正常乳腺上皮细胞株和少量乳腺癌细胞株均表达 Fas 抗原,Fas 抗体孵育后引起细胞凋亡,IFN- γ 处理后的乳腺癌细胞株对 Fas 介导凋亡的敏感性增加,认为 ICE 不仅是 Fas 介导凋亡的信号中心,而且还参与 Fas 介导凋亡的敏感性调节。动物实验发现 Fas 抗原丧失加速淋巴瘤发生,表明 Fas 参与肿瘤的发生可能与介导的凋亡减少有关。

总之,细胞凋亡的调节不仅是多因素的,而且是错综复杂的,各相关因素间可相互影响,控制细胞增殖的基因与控制凋亡基因可相互交叉,尚不能完全发现所有凋亡相关因素。

3 细胞粘附因子和宫颈癌变

细胞粘附因子通过参与调节细胞与细胞、细胞与基质之间的相互作用而在肿瘤发展、侵袭和转移过程中起着重要作用。 CD_{44} 是细胞粘附因子中的一种,为跨膜分子受体,基因定位于 11 号染色体。 CD_{44} 分子根据基因外显子表达方式的不同编码 2 种不同类型的蛋白即标准型 CD_{44s} , 和变异型 CD_{44v} 。

CD_{44v} 与肿瘤转移的相关性研究在 1991 年由 Günther^[10] 用单克隆技术首先在大鼠胰腺癌组织中得到证实,发现 CD_{44v} 仅在发生转移的肿瘤细胞株中表达。Matsumura^[11] 也证实 CD_{44v} 在肿瘤组织中特别是在发生转移的原发癌组织中有异常表达。Dall 于 1994 年首次对宫颈新鲜标本采用免疫组织化学和反转录 PCR 法发现 $CD_{44v7/8}$ 编码的抗原在正常宫颈上皮不表达,而在所有宫颈癌组织中呈阳性表达,认为 $CD_{44v7/8}$ 可用于鉴别早期宫颈癌。Kainz 等^[12] 对 I B-II B 宫颈癌石蜡切片用免疫组织化学法进行回顾性研究,发现 $CD_{44v5, v6}$ 表达率明显高于 $CD_{44v7/8}$, 指出 V_6 的表达与盆腔淋巴结转移、血管受累和炎症间质反应有关,表达 V_6 的肿瘤细胞有更高的转移潜力, $CD_{44v6, v7/8}$ 均和预后相关。Dall^[13] 于 1996 年再次研究发现 $CD_{44v7/8}$ 表达在宫颈上皮内病变、原位癌和浸润癌中随组织病变程度增高而递增,在正常宫颈中不表达,浸润癌中表达率为 100%,故认为 $CD_{44v7/8}$ 在宫颈癌变中起重要作用。他首次探讨了 CD_{44v} 和 HPV 的关系,发现 $CD_{44v7/8}$ 阳性者多为 HPV₁₆ 阳性,癌细胞株感染 HPV 后对 $CD_{44v7/8}$ 的表达起上调作用,推测 HPV 感染可能在 CD_{44v} 表达之前,两者协同参与肿瘤的恶变和转移。

4 转化生长因子 β_1 与宫颈癌变

转化生长因子 β_1 (TGF β_1) 是一种具有广泛生物学作用的同源二聚体多肽。它可在细胞增殖、细胞外基质沉积、血管生成及免疫反应等生理病理过程中起作用^[14]。TGF β_1 在肿瘤发生、浸润和转移过程中的作用仍有争论,但大多数学者认为其对肿瘤发生和进展有促进作用。在肝癌、前列腺癌、乳腺癌组织中 TGF β_1 的含量均高于其来源正常组织^[15]。有实验表明:癌组织表达 TGF β_1 明显高于癌旁组织及正常宫颈组织 ($P < 0.01$),提示 TGF β_1 在宫颈癌发生、恶性转化过程中可能起促进作用,并说明 TGF β_1 具有一定的调节肿瘤转移的能力^[16]。另外,采用免疫组织化学方法可进一步明确在细

胞水平上宫颈癌中 TGF β_1 的表达定位,其阳性颗粒主要位于肿瘤细胞胞浆及细胞外基质,而间质血管内皮细胞亦有少量表达。总之,TGF β_1 在宫颈癌中的发生、恶性转化及淋巴结转移过程中可能起一定作用,而其免疫组化染色可作为判定宫颈癌淋巴结转移倾向的一个新指标。

5 其它

热休克蛋白 (HSP) 是在各种刺激因素作用下,热应激诱导细胞合成的一类高度保守的蛋白质,根据分子量大小分为多个家族成员,其各自的生理作用及在病理过程中的意义不同^[17]。HSPs 在细胞周期调节、DNA 损伤修复、基因产物代谢等过程中起重要作用。有实验证明:宫颈癌组织中 HSP₆₀ 的表达量及阳性率明显高于宫颈癌旁、正常宫颈组织,提示宫颈癌上皮在癌变过程及癌变后细胞内 HSPs 生成增加。热休克蛋白与细胞转化和恶变过程密切相关^[18]。肿瘤组织中的热休克蛋白可抑制肿瘤生长和转移,容易诱发肿瘤细胞凋亡^[19],还与肿瘤多药耐药的形成有关^[20]。所以认为 HSP₆₀ 与宫颈癌的发生发展密切相关。

端粒是真核细胞染色体末端的一种重复片段,能够维持染色体的稳定和完整性^[21],避免其发生融合、降解或重组等变化,随着细胞分裂,端粒逐渐缩短,致使细胞衰老、死亡^[21]。而端粒酶是一种核糖核蛋白酶,它是一种逆转录酶,能以自身的 RNA 为模板,指导合成端粒 DNA^[22]。正常人体细胞中端粒酶的表达很低,或完全检测不到,而在恶性肿瘤细胞中,端粒酶常呈阳性表达,使端粒保持一定长度^[23],人类端粒酶包括 3 个主要组成部分,人端粒酶 RNA (hTR)、端粒酶催化亚单位 (hTERT/hEST2) 和端粒酶连接蛋白 (TP1/TLP1)^[24]。端粒长度的维持主要依靠端粒酶的调节,端粒酶激活是永生化肿瘤细胞的重要特征,也是永生化细胞生存所必需^[25]。由于细胞的永生性是在端粒长度稳定化过程中获得的^[23],且端粒的稳定是对端粒酶活性的反应,而恶性肿瘤是由大量的具有永生性的细胞组成^[26],因此,端粒酶的活化自然成为恶性肿瘤的普遍现象。Rhyu^[27] 检测了 100 个具有永生性的肿瘤细胞株,端粒酶的阳性率为 98%,而非永生性的肿瘤细胞株中,则端粒酶全部呈阴性,由此可见,端粒酶的活性表达与肿瘤的形成有着高度的相关性,是癌变过程诸多环节中的关键一环^[21]。研究表明,端粒酶表达阳性率在宫颈癌中明显高于 CIN 与正常宫颈组织,而且 CIN 明显高于正常宫颈^[26]。这说明在宫颈癌变过程中端粒酶表达呈明显增高趋势,提示端粒酶激活在宫颈癌的发生早期即已出现,并与宫颈癌的发展有一定关系。

6 体会

类风湿性关节炎属于中医学的“痹证”、“历节”病范畴。《素问·痹论篇》说:“风寒湿三气杂至合而成痹也。”《类证治裁》说:“诸痹……良由营先卫虚、腠理不密,风寒湿乘虚内袭,久而成痹。”所以该病的病因是由于人体正气不足再感受风寒湿热之邪,邪气滞留于体内关节筋骨,日久导致关节经脉气血阻滞,气滞则血瘀,血瘀则络脉不通、不通则痛。笔者认为该病的病机主要是关节经脉气滞血瘀,所以立法上以活血祛瘀为主,再根据风寒湿热之邪的偏轻偏重分型以及患者体质的强弱来加减用药,收到比较满意治疗效果。

(收稿日期:2003-03-29)

(上接第 46 页) 医诊治均未效,病情时重时轻,近 2 个月来病情加重,现症见患者面赤气粗,双手中指及无名指关节呈对称性红肿热痛,触之患处皮肤灼热,关节屈伸不利,早上指关节僵硬 3h 以上,下肢双侧拇趾关节及双内踝关节红肿热痛、口干喜冷饮、尿赤、舌红、苔黄燥、脉弦数。血检:血沉 38mm/1h、类风湿因子阳性。诊为湿热痹,热重于湿。治法:活血祛瘀,清热通痹。方药:基本方合湿热痹方加生地 15g、连服 2 周后症见关节肿痛,痛减,无灼热感,无口干,尿色淡黄,舌偏红、苔薄黄,脉弦数,上方去生地、石膏加桑枝 20g、全蝎 5g、蜈蚣 2 条、地龙 12g,连服 4 周后诸症全消。停药后血检:血沉正常,类风湿因子阴性,后随访 1 年未再复发。

还有多种细胞因子及其受体参与宫颈癌的形成和发展,就不再一一细述。

参考文献

[1] 陈涌芬,杨道理,王宝成,等.聚合酶链反应检测宫颈癌的前瞻性研究[J].现代诊断与治疗,1995,6(1):11-13.

[2] Gavrieli Y, Sherman Y, Bin-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation[J]. The Journal of Cell Biology,1992,119(4):493

[3] Gustavo BB, Ioachim D, Gregor C, et al. Apoptosis and immunohistochemical bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas[J].Cancer,1996,77(2):255

[4] Zamzami N,Susin SA,Marchetti P,et al.Mitochondrial control of nuclear apoptosis [J].J Exp Med, 1996,183(4):1 533

[5] Green DR and Reed JC.Mitochondria and Apoptosis [J].Science, 1998,281(5381):1309

[6] 刘勤,陈葳,李旭,等.顺铂诱导人卵巢癌 AO10/17 细胞凋亡的实验研究[J].中华妇产科杂志,1998,33(7):422

[7] Mittal KR,Lin O,Chan W, et al.Cervical squamous dysplasias and carcinomas with immunodetectable P₅₃ frequently contain HPV[J].Gynecol Oncol,1995,58:289-294

[8] Wang J, Guo K, Wills KN, et al. Rb functions to inhibit apoptosis during myocyte differentiation[J]. Cancer Res,1997,57(3):351

[9] Maccon MK, Seth AE, Geoffrey AL, et al. Fas expression and function in normal and malignant breast cell lines [J].Cancer Res, 1996,56(20):4791

[10] Gü nthert U.A new variant of glycoprotein CD₄₄ confers metastatic potential to rat carcinoma cells[J].Cell,1991,65:13

[11] Matsumura Y. Significance of CD₄₄ gene products for cancer diagnosis and disease evaluation[J].Lancet,1992,340:1053

[12] Kainz CH, Kohberger P, Sliutz G, et al. Splice variants of CD₄₄ in human cervical cancer stage I B to II B [J].Gynecol Oncol,1995,57(3):383

[13] Dall P, Hekele A, Ikenberg H, et al .Increasing incidence of CD_{44v7/8} epitope expression during uterine cervical carcinogenesis [J].Int J Cancer,1996,69(2):79

[14] Spom MB, Robers AB, Wakefield LM, et al. Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth-beta [J]. J Cell

Biol,1987,105(3):1039

[15] Eastham JA, Truong LD, Rogers E, et al. Transforming growth factor beta1: comparative immunohistochemical localization in human primary and metastatic prostate cancer[J]. Lab Invest. 1995, 73(5):628

[16] Welch PR, Fabra A, Nakajima M, Transforming growth factor beta stimulates mammary adenocarcinoma cell invasion and metastatic potetial[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87(19):7678

[17]Chen Y, Robles AI, Martinez LA,et al. Expression of G1 cyclin-dependent kinase, and cyclin-dependent kinase inhibitors in androgen-induced prostate proliferation in castrated rats [J]. Cell Growth Differ, 1996, 1 571~1 578

[18]Whitesell L, Mimnaugh EC, Costa BD, et al. Inhibition of heat shock protein HSP₆₀-pp60v-src heteroprotein complex fomation in benzoquinone ansamycins:Essential role for stress proteins in oncogeneic transformation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 8324~8328

[19]Wei YQ, Zhao X. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis by abrogation HSP₇₀ gene expression in tumor cells [J]. Cancer Immuol Immunother, 1995,40:73~75

[20]Lundblad V, Szostak JW. A mutant with a defect in telomere elongation leads to senescence in yeast[J]. Cell, 1989,57: 633~643

[21] Ferg JL, Funk WD, Wang SS, et al. The RNA component of human telomerase[J]. Science, 1995,269:1 236~1 241

[22]Rhysu MS. Telomeres, telomerase, and immortality [J]. J Natl Cancer Inst, 1995, 87:884-894

[23] Allsopp RC, Vaziri H, Patterson C, et al. Telomere lergth predicts replicative capacity of human fibroblasts[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992, 89: 10 114~10 118

[24] Piatyszek MA, Kim NW, Weinrich SL, et al. Detection of telomere activity in human cells and tumors by a telomere repeat amplification protocol (TRAP)[J]. Methods Cell Sci, 1995, 17: 1~15

[25]Sugerman PB, Savage NW, Xn LJ, et al. Heat shock protein expression in oral epithelial dysplasis and squamous cell carcinomal [J]. Eur J Cancer Part B Oral Oncol,1995,31: 63-67

[26] 陈雯,张桥,万德森,等.人胃癌结直肠癌组织中的端粒酶活性 [J].中华肿瘤杂志,1998,4(20):261~263

(收稿日期:2002 - 10 - 25)

(上接 64 页)

2.6 抗氧化剂 UA 患者不稳定斑块中含大量过氧化的 OX-LDL,因此稳定病变应用此类药物(如 VitE)是合理的。

2.7 血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI) 有改善内皮功能、减少左室重构等心血管保护效应,对伴有高血压或左室功能障碍患者较为适用。

2.8 介入性治疗(PTCA)及冠脉成形手术(CAGB) UA 急性期进行紧急介入性治疗风险一般高于择期介入治疗,对高危患者虽经内科加强治疗,心绞痛仍反复发作,或发作时间明显延长,超过 1h,药物不能有效缓解,或发作时伴有血流动力学不稳定等情况,应考虑紧急 PTCA。如冠脉造影显示患者为左冠脉主干病变或弥漫性狭窄病变,不适宜介入治疗时,则应选择紧急冠脉搭桥手术(CABG)。除以上少数情况外,大多数 UA 患者的介入性治疗,宜放在病情稳定 48h 以后进行。

3 UA 的中医药治疗

对 UA 患者,除前述 SA 时应用缓解疼痛的中成药和辨证论治(标本兼治)外,某些中药及方剂具有抗血小板、抗凝、改善冠脉循环的作用,可能有改善血管内皮功能、稳定斑

块功效,关于这方面的中西医结合临床和基础研究有不少报道,例如:

3.1 丹参、川芎可促进动脉内膜 PGI₂ 形成,赤芍、川芎能抑制 TXA₂ 生成,具有抗血栓作用。

3.2 血竭、益母草、丹参除直接抑制血小板聚集外,还能提高血小板 cAMP 含量,从而间接抑制血小板聚集。

3.3 赤芍、川芎、益母草、当归、丹皮、红花、五灵脂等均具有降低冠脉阻力、增加血流量的作用。

3.4 以益气、活血、化瘀、通络等中药组成的方剂,包括血府逐瘀汤(由桃仁、红花、当归、熟地、川芎、赤芍、柴胡、枳实、牛膝、桔梗、甘草组成)、补阳还五汤(黄芪、当归、桃仁、红花、川芎)、心脉通胶囊(红花、三七、大黄、川芎、地龙)、益气通络丹(黄芪、赤芍、红花、地龙、陈皮、淫羊藿)等,为临床应用有较好的抗心绞痛疗效,通过生化检测证明这些方药可降低血清丙二醛(MDA)及脂质过氧化酶(LPO)、升高血清超氧化物歧化酶(SOD)、降低血清内皮素(ET)及提高 NO 等效应,表明这类方剂具有增强机体抗氧化能力,保护血管内皮效应,可用于 UA 的防治。

(收稿日期:2003 - 04 - 21)