

细胞分化与子宫颈癌

周颖¹, 缪琳², 程勇³, 赵卫东¹

Cell Differentiation and Cervical Cancer

ZHOU Ying¹, MIU Lin², CHENG Yong³, ZHAO Weidong¹

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Anhui Provincial Hospital of Affiliated to Anhui Medical University, Hefei 230001, China; 2. Central Laboratory, The Second Hospital Affiliated to Anhui Medical University; 3. Department of Oncological Radiotherapy, Anhui Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University



Abstract: Cell differentiation disorders play an important role in the mechanisms of cervical squamous cancer. This paper is to review differentiation disorders involved in the progress, specific molecular markers, and regulatory programs of epithelial, as well as abnormal expression of Δ Np63 α , ITCH, Notch1 and miRNA in the malignant transformation.

Key words: Cell differentiation; Cervical cancer; p63

摘要: 分化障碍在子宫颈癌鳞癌发病机制中作用至关重要, 本文就上皮细胞分化的进程、特异分子标识、调控程序加以总结; 并对 Δ Np63 α 、ITCH、Notch1、miRNA的异常表达在鳞状上皮细胞分化障碍致细胞癌变中的机制加以综述。

关键词: 细胞分化; 子宫颈癌; p63

中图分类号: R737.33 文献标识码: A

0 引言

子宫颈癌是严重威胁女性生殖健康的恶性肿瘤, 其主要发病机制与高危型人乳头瘤病毒 (high risk-human papilloma virus, HR-HPV) 的慢性、持续性感染密切相关^[1]。大量临床资料证明, 80%的子宫颈癌的病理类型是鳞癌^[1], 因此, 探究子宫颈上皮组织鳞状细胞恶性转化的机制是阐明子宫颈癌发生发展的关键。已经证明, HR-HPV合成的E6蛋白抑制了宿主细胞的p53蛋白的功能, 并激活了端粒酶活性; 而其合成的E7蛋白则抑制了宿主细胞的Rb的功能, 引起细胞癌变^[2]; 但是, 上述机制并不能完全阐释清楚子宫颈鳞癌的发病机制, 其他重要的分子机制尚待探索。本文就鳞状细胞的分化障碍在子宫颈鳞癌发病机制中的重要作用加以综述。

1 细胞分化与子宫颈鳞状细胞的角化

1.1 细胞分化(Cell differentiation)

细胞分化是一种持久性的变化, 不仅发生在胚

胎发育中, 而是一生都进行着, 以补充衰老和死亡的细胞。细胞分化是由一种相同的细胞类型经过细胞分裂后逐渐在形态、结构和功能上形成稳定性差异, 产生不同的细胞类群的过程。即细胞分化是同一来源的细胞逐渐发生各自特有的形态结构、生理功能和生化特征的过程。其结果在空间上细胞之间出现差异, 在时间上同一细胞和它以前的状态有所不同。正常子宫颈鳞状上皮组织由基底膜、基底细胞、副基底细胞、鳞状细胞、角化细胞 (cornification 又称 keratinization) 组成, 基底细胞通过分化形成角化细胞的进程即是子宫颈鳞状上皮分化成熟的过程^[3-4]。

1.2 鳞状细胞的角化

与其他组织类型细胞的分化结局不同, 鳞状上皮组织分化的终末细胞是角化细胞, 而角化既是细胞死亡的一种特殊形式, 又赋予了皮肤黏膜保护屏障。角化的经典途径是: 基底细胞离开细胞增殖周期启动分化→早期分化因子 (involucrin等) 及晚期分化因子 (loricrin等) 相继特异性表达→细胞骨架重排、蛋白酶激活、细胞核降解并消失→细胞角化→成熟脱落^[5-6]。鉴于角化与凋亡的机制有诸多相似性, 而角化细胞与凋亡细胞的形态特点极其相似, 因此, 角化又被认为是鳞状细胞的另一种凋亡形式。

1.3 鳞状细胞分化进程的分子标识

鳞状细胞的分化进程受到严格的时间、空间调控: 不同阶段表达不同的分子标识。角蛋

收稿日期: 2012-11-16; 修回日期: 2013-01-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81001168, 81101525, 81272881); 安徽高校省级自然科学基金资助项目 (KJ2012Z159); 安徽省自然科学基金资助项目 (1308085MH122); 安徽省科技厅2013年重点科研第三批基金资助项目 (1301043053)

作者单位: 1.230001合肥, 安徽医科大学附属省立医院妇产科; 2.安徽医科大学第二附属医院中心实验室; 3.安徽医科大学附属省立医院放疗科

作者简介: 周颖 (1975-), 女, 博士, 副研究员, 主要从事妇科肿瘤的分子诊断及分子机制研究

白(keratin)是细胞分化的重要分子标识。该家族成员分为两型: I型酸性角蛋白: K9~K10、K12~K28、K31~K40(包括K33a和K33b); II型: 中性或碱性角蛋白: K1~K8(包括K6a、K6b、K6c)、K71~K86。角蛋白组装时必须由I型和II型以1:1的比例混合组成异二聚体, 表达在特定组织、分化细胞中。K5/K14、K15特异表达在基底细胞中, 尽管K5/K14的mRNA表达在基底细胞, 限于不同抗体特异性的差异, 在接近基底细胞的浅层副基底细胞中也可以检测到K5/K14的少量表达。基底细胞向副基底细胞分化过程中K5/K14、K15表达消失, 而代之以K1/K10出现, 因此, K1/K10是副基底细胞的分子标识, K10的表达具有抑制鳞状细胞进行细胞增殖周期的功能; 另外, K4/K13也表达在副基底细胞层。鳞状上皮组织最上层细胞则主要表达K2/K10^[7]。其他重要的分子标识包括: 早期分化标识involucrin, 而细胞终末分化的分子标识filaggrin、loricrin^[8]。

2 鳞状细胞分化的调控机制

2.1 基底细胞是分化的储备细胞

既然角化始动的初始环节是基底细胞离开细胞增殖周期、启动分化, 那么基底细胞在分化过程中的作用至关重要。研究发现, 基底细胞又称为储备细胞, 不仅具备向鳞状细胞分化的潜能, 还具备不断增殖的功能, 因此, 基底细胞的分化一旦受阻是导致分化异常的始动环节, 其表现为细胞异常增殖, 死亡受阻, 而促进细胞的恶性转化。

2.2 鳞状细胞分化的调控基因

鳞状细胞早期分化是指基底细胞向副基底细胞转变的过程, 其特点是副基底细胞失去增殖功能, 而获得向终末分化(及形成角化细胞)的潜能。细胞分化主要是奢侈基因(Luxury gene)中某些特定基因有选择地表达的结果, 而调控宫颈鳞状上皮组织正常分化的关键性奢侈基因主要包括p63、Itch、Notch1、microRNA等相关基因。p63基因特异性表达在基底细胞中, 并赋予了基底细胞分化的潜能。沉默p63的表达, 基底细胞则丧失向鳞状细胞分化、角化死亡的能力^[9-10]。因此, p63在基底细胞中的表达是确保宫颈鳞状上皮组织正常分化的关键性调控基因。p63是p53家族成员。根据p63基因不同的N端及C端, 至今已经发现TAp63 α 、TAp63 β 、TAp63 γ 、 Δ Np63 α 、 Δ Np63 β 、 Δ Np63 γ 、 Δ Np63 δ 、 Δ Np63 ϵ 8种亚型, 不同亚型功能迥异^[11]。宫颈鳞状上皮组织的基底细胞主要表达 Δ Np63 α 亚型^[12]。 Δ Np63 α 通过直接上调基底细胞中K5、K14的表达调控细胞分化。p63在副基底细胞仍有少量表达, 随着细胞的分化、分层, p63的表达逐渐消失, 因此, p63在鳞状细胞分化进程中受到严密的时间、空间调控^[8]。ITCH(又称AIP4, 是HECT E3家族成员), 定位

于20q11.22, 编码相对分子质量为113 kD的蛋白质。主要表达在副基底细胞、中层细胞的细胞核中, 在鳞状细胞终末分化的过程中起着关键性调控作用。该基因通过经典的单泛素化途径或多泛素化蛋白降解途径调节蛋白的稳定性。ITCH蛋白具有降解p63、p73的功能, 因此, 通过降解副基底细胞中p63的表达, ITCH精确调控p63的空间表达水平, 促进细胞的终末分化^[13-15]。Notch家族成员包括Notch1、Notch2、Notch3、Notch4, 在鳞状细胞中, Notch1表达在副基底细胞中, Notch1的激活使细胞退出增殖周期而进入分化进程中, 是调控上皮细胞终末分化的关键性基因, 机制可能是Notch1通过抑制副基底细胞中p63的表达水平使副基底层细胞向终末分化。有趣的是, Notch1抑制p63的表达作用具有细胞特异性, 即仅在鳞状上皮细胞中表现上述现象。另外, p63还可以负性调控Notch1的激活, 因此p63与Notch1之间在分化进程中相互调控、相互制约, 其两者的稳态保证了鳞状细胞分化的正常进行^[16]。MicroRNA(miRNA)是大小在18~22 nt左右的非编码单链小分子RNA, 主要功能是负调控基因的表达, miRNA对基因的调控主要通过两种方式进行: 一种是在序列完全匹配的情况下, 结合mRNA的3'端非翻译区阻抑mRNA的翻译; 一种是作用mRNA的编码区, 参与基因表达调控, 或作用于启动子区, 直接参与激活基因的表达。miR203主要表达在上皮组织的副基底细胞中, 其功能促进细胞分化, 抑制细胞增殖; 其机制可能是miR203直接抑制p63的表达, 而使p63表达逐渐消失, 促进了鳞状细胞的终末分化成熟、角化^[17]。

3 子宫颈鳞癌与细胞分化障碍

最近研究发现, 细胞癌变的机制不仅与凋亡受阻、增殖过度密切相关, 还与细胞分化障碍紧密相联。当宫颈上皮组织受到创伤时, 基底细胞暴露, HR-HPV则通过结合其在基底细胞表面的特异受体(如整合素 $\alpha 6 \beta 4$ 等)进入宿主细胞并整合到其染色体中^[18], 表达大量的病毒癌蛋白E6、E7, 使基底细胞脱离正常的分化进程, 进入无限增殖过程, 从而参与了宫颈鳞状细胞的恶性转化, 其分子机制可能如下。

3.1 Δ Np63 α 的表达降低

Δ Np63 α 主要表达在基底细胞中, 不仅具有调控基底细胞正常分化的功能, 还具有抑制肿瘤细胞侵袭和转移、阻碍肿瘤细胞的上皮间质化等作用; 而且 Δ Np63 α 表达降低或丢失的肿瘤患者预后较差^[19-21], 我们前期研究发现, Δ Np63 α 的表达在宫颈鳞癌组织中表达显著降低^[12], 推测其表达失调可能抑制了鳞状细胞分化, 促进了癌变的发生。

3.2 ITCH的表达失调

ITCH蛋白在部分肿瘤细胞中表达升高,

ITCH在甲状腺癌细胞中因基因组扩增,表达显著升高,可能在甲状腺癌的发病机制中起着重要作用。本课题组前期研究发现,ITCH在正常子宫颈上皮组织的副基底细胞、中层细胞的细胞核中表达,而在癌变细胞中则表达水平升高,部位发生改变,局限细胞质中;因此,ITCH蛋白表达部位及水平的变化,可能使细胞分化受阻^[22]。ITCH还可以通过降解抑癌蛋白LATS1(large tumor suppressor 1),抑制细胞凋亡,参与细胞的恶性转化^[23];推测ITCH蛋白的表达异常升高可能阻碍了正常子宫颈上皮细胞的分化进程,从而促进了细胞的恶性生物学行为。

3.3 Notch1的表达失调

Notch1基因在不同的肿瘤类型中作用不同,在上皮细胞中,主要调控细胞分化。Notch1在子宫颈癌细胞中表达显著降低,其结果是维持了E6/E7蛋白的表达及鳞状细胞的恶性转化,同时难以在空间上正常调控p63的表达水平,因此,可能导致细胞分化障碍而促进肿瘤发生^[24]。

3.4 miRNA的异常表达

miRNA突变或含量的变化与子宫颈癌的发生有关,miR-203主要表达在副基底细胞中,通过抑制p63的表达,抑制细胞的增殖,促进细胞的分化。研究发现,HR-HPV表达的E6、E7蛋白通过下调miR-203的表达,使感染病毒的细胞在分化进程中并未退出细胞周期,而继续增殖^[25],因此,miRNA-203表达的失调也是细胞分化障碍的原因之一。

4 展望

子宫颈上皮细胞癌变的机制复杂,凋亡受阻、过度增殖、上皮细胞间质化、肿瘤细胞自噬、miRNA表达失调等因素备受重视,目前,细胞分化障碍在肿瘤发病机制中的作用相关报道较少,但是越来越受到广大学者的关注,p63作为启动基底细胞分化的关键性基因,其表达调控分子机制可能在子宫颈鳞状上皮细胞分化过程中具有核心地位,但是,尚无HR-HPV的表达是否对p63的表达具有调控作用。已经明确HR-HPV表达的大量E6蛋白通过与HECT家族成员E6AP结合介导泛素-蛋白酶体途径降解p53,而p63作为p53家族成员,也受HECT家族ITCH介导的泛素-蛋白酶体途径降解调控,那么,E6是否也可以通过类似的方式调控p63的表达,从而阻碍细胞的正常分化,而促进了鳞状细胞的癌变?阐明鳞状细胞分化障碍的分子机制将从一个全新的角度探讨子宫颈鳞癌的发病机制,并为子宫颈癌的防治提供新策略、新方法。

参考文献:

[1] Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation[J]. *Nat Rev Cancer*,2010,10(8): 550-60.
[2] Lomnyska MI, Becker S, Hellman K, *et al.* Diagnostic protein

marker patterns in squamous cervical cancer[J]. *Proteomics Clin Appl*,2010,4(1): 17-31.
[3] Smedts F, Ramaekers F, Troyanovsky S, *et al.* Basal-cell keratins in cervical reserve cells and a comparison to their expression in cervical intraepithelial neoplasia[J]. *Am J Pathol*,1992,40(3):601-12.
[4] Smedts F, Ramaekers F, Troyanovsky S, *et al.* Keratin expression in cervical cancer[J]. *Am J Pathol*,1992,141(2): 497-511.
[5] Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, *et al.* Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on cell death 2009[J]. *Cell Death Differ*,2009,16(1):3-11.
[6] Lippens S, Denecker G, Ovaere P, *et al.* Death penalty for keratinocytes: apoptosis versus cornification[J]. *Cell Death Differ*,2005,12(Suppl 2):1497-508.
[7] Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: biology and pathology[J]. *Histochem Cell Biol*,2008,129(6):705-33.
[8] Candi E, Schmidt R, Melino G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2005,6(4): 328-40.
[9] Truong AB, Kretz M, Ridky TW, *et al.* p63 regulates proliferation and differentiation of developmentally mature keratinocytes[J]. *Genes Dev*,2006,20(22):3185-97.
[10] Truong AB, Khavari PA. Control of keratinocyte proliferation and differentiation by p63[J]. *Cell Cycle*,2007,6(3):295-9.
[11] Mangiulli M, Valletti A, Caratozzolo MF, *et al.* Identification and functional characterization of two new transcriptional variants of the human p63 gene[J]. *Nucleic Acids Res*,2009,37(18): 6092-104.
[12] Zhou Y, Xu Q, Ling B, *et al.* Reduced expression of Δ Np63 α in cervical squamous cell carcinoma[J]. *Clin Invest Med*,2011,34(3): E184-91.
[13] Melino G, Knight RA, Cesareni G. Degradation of p63 by Itch[J]. *Cell Cycle*,2006,5(16):1735-9.
[14] Rossi M, Aqilan RI, Neale M, *et al.* The E3 ubiquitin ligase Itch controls the protein stability of p63[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2006,103(34):12753-8.
[15] Rossi M, De Simone M, Pollice A, *et al.* Itch/AIP4 associates with and promotes p63 protein degradation[J]. *Cell Cycle*, 2006,5(16):1816-22.
[16] Forster N, Ellisen LW. Notch signaling mediates p63-induced quiescence: a new facet of p63/Notch crosstalk[J]. *Cell Cycle*,2011, 10(21):3632-3.
[17] Lena AM, Shalom-Feuerstein R, Rivetti di Val Cervo P, *et al.* miR-203 represses 'stemness' by repressing DeltaNp63[J]. *Cell Death Differ*,2008,15(7): 1187-95.
[18] Yoon CS, Kim KD, Park SN, *et al.* alpha(6) Integrin is the main receptor of human papillomavirus type 16 VLP[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2001,283(3):668-73.
[19] Marine JC, Bex G. Transforming growth factor-beta and mutant p53 conspire to induce metastasis by antagonizing p63: a ternary complex affair[J]. *Breast Cancer Res*,2009,11(4): 304.
[20] Adorno M, Cordenonsi M, Montagner M, *et al.* A Mutant-p53/Smad complex opposes p63 to empower TGFbeta-induced metastasis[J]. *Cell*,2009,137(1):87-98.
[21] Barbieri CE, Tang LJ, Brown KA, *et al.* Loss of p63 leads to increased cell migration and up-regulation of genes involved in invasion and metastasis[J]. *Cancer Res*,2006,66(15):7589-97.
[22] Ishihara T, Tsuda H, Hotta A, *et al.* ITCH is a putative target for a novel 20q11.22 amplification detected in anaplastic thyroid carcinoma cells by array-based comparative genomic hybridization[J]. *Cancer Sci*,2008,99(10):1940-9.
[23] Ho KC, Zhou Z, She YM, *et al.* Itch E3 ubiquitin ligase regulates large tumor suppressor 1 stability[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2011,108(12):4870-5.
[24] Talora C, Sgroi DC, Crum CP, *et al.* Specific down-modulation of Notch1 signaling in cervical cancer cells is required for sustained HPV-E6/E7 expression and late steps of malignant transformation[J]. *Genes Dev*,2002,16(17):2252-63.
[25] Melar-New M, Laimins LA. Human papillomaviruses modulate expression of microRNA 203 upon epithelial differentiation to control levels of p63 proteins[J]. *J Virol*,2010,84(10):5212-21.