

- cadherin gene (CDH1) promoter hypermethylation assessment in DNA from gastric juice of diffuse gastric cancer patients[J]. Ann Oncol, 2008, 19(3): 516-519.
- [6] Nagasaka T, Tanaka N, Cullings HM, et al. Analysis of fecal DNA methylation to detect gastrointestinal neoplasia[J]. J Natl Cancer Inst, 2009, 101(18): 1244-1258.
- [7] Watanabe Y, Kim HS, Castoro RJ, et al. Sensitive and specific detection of early gastric cancer with DNA methylation analysis of gastric washes[J]. Gastroenterology, 2009, 136(7): 2149-2158.
- [8] Chen Z, Fan JQ, Li J, et al. Promoter hypermethylation correlates with the Hsulf-1 silencing in human breast and gastric cancer[J]. Int J Cancer, 2009, 124(3): 739-744.
- [9] Bernal C, Aguayo F, Villarroel C, et al. Reprimo as a potential biomarker for early detection in gastric cancer[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(19): 6264-6269.
- [10] Mitsuno M, Kitajima Y, Ide T, et al. Aberrant methylation of p16 predicts candidates for 5-fluorouracil-based adjuvant therapy in gastric cancer patients[J]. J Gastroenterol, 2007, 42(11): 866-873.
- [11] Waki T, Tamura G, Sato M, et al. Promoter methylation status of DAP-kinase and RUNX3 genes in neoplastic and non-neoplastic gastric epithelia[J]. Cancer Sci, 2003, 94(4): 360-364.
- [12] Agrawal A, Dang S, Gabrani R. Recent patents on anti-telomerase cancer therapy[J]. Recent Pat Anticancer Drug Discov, 2011, 7(1): 102-117.
- [13] Capezzone M, Cantara S, Marchisotta S, et al. Telomere length in neoplastic and nonneoplastic tissues of patients with familial and sporadic papillary thyroid cancer[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2011, 96(11): 1852-1856.
- [14] Wang Z, Xu J, Geng X, et al. Analysis of DNA methylation status of the promoter of human telomerase reverse transcriptase in gastric carcinogenesis[J]. Arch Med Res, 2010, 41(1): 1-6.
- [15] Yu J, Tao Q, Cheng YY, et al. Promoter methylation of the Wnt/beta-catenin signaling antagonist Dkk-3 is associated with poor survival in gastric cancer[J]. Cancer, 2009, 115(1): 49-60.
- [16] Sugita H, Iida S, Inokuchi M, et al. Methylation of BNIP3 and DAPK indicates lower response to chemotherapy and poor prognosis in gastric cancer[J]. Oncol Rep, 2011, 25(2): 513-518.
- [17] Zhang Y, Qu X, Jing W, et al. GSTP1 determines cis-platinum cytotoxicity in gastric adenocarcinoma MGC803 cells; regulation by promoter methylation and extracellular regulated kinase signaling[J]. Anticancer Drugs, 2009, 20(3): 208-214.
- [18] Lee TB, Park JH, Min YD, et al. Epigenetic mechanisms involved in differential MDR1 mRNA expression between gastric and colon cancer cell lines and rationales for clinical chemotherapy[J]. BMC Gastroenterol, 2008, 8: 33.
- [19] Luo J, Li YN, Wang F, et al. S-adenosylmethionine inhibits the growth of cancer cells by reversing the hypomethylation status of c-myc and H-ras in human gastric cancer and colon cancer[J]. Int J Biol Sci, 2010, 6(7): 784-795.
- [20] Sakakura C, Hamada T, Miyagawa K, et al. Quantitative analysis of tumor-derived methylated RUNX3 sequences in the serum of gastric cancer patients[J]. Anticancer Res, 2009, 29(7): 2619-2625.
- [21] Hiraki M, Kitajima Y, Sato S, et al. Aberrant gene methylation in the peritoneal fluid is a risk factor predicting peritoneal recurrence in gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(3): 330-338.
- [22] Gong Y, Guo MZ, Ye ZJ, et al. Silence of HIN-1 expression through methylation of its gene promoter in gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(4): 526-533.
- [23] Gao YJ, Xin Y, Zhang JJ, et al. Mechanism and pathobiologic implications of CHFR promoter methylation in gastric carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(32): 5000-5007.
- [24] Buffart TE, Overmeer RM, Steenbergen RD, et al. MAL promoter hypermethylation as a novel prognostic marker in gastric cancer[J]. Br J Cancer, 2008, 99(11): 1802-1807.
- [25] Al-Moundhri MS, Al-Nabhani M, Tarantini L, et al. The prognostic significance of whole blood global and specific DNA methylation levels in gastric adenocarcinoma[J]. PLoS One, 2010, 5(12): e15585.
- [26] Tamura G, So K, Miyoshi H, et al. Quantitative assessment of gene methylation in neoplastic and non-neoplastic gastric epithelia using methylation-specific DNA microarray[J]. Pathol Int, 2009, 59(12): 895-899.
- 综 述 •

(收稿日期: 2011-09-04)

Toll 样受体在丙型肝炎慢性化中的作用机制

魏新素 综述, 张平安[△]审校

(武汉大学人民医院检验科, 武汉 430060)

关键词: 肝炎, 丙型, 慢性; Toll 样受体; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 12. 024

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)12-1461-03

世界上约有 3% 的人感染了丙型肝炎病毒(HCV), 其中 55%~85% 的感染者发展成为慢性感染^[1]。不同的个体感染后的自然病程和结局存在较大差异。Toll 样受体(TLRs)能够识别病毒的单链 RNA, 在病毒感染中参与病原体的识别和宿主反应。本文就 TLRs 在慢性丙型肝炎(CHC)发病机制中的研究进行综述。

1 HCV 感染

HCV 是黄种病毒科, 单股正链 RNA, 宿主仅局限在人类和黑猩猩。HCV 通过与宿主之间相互作用调节宿主反应来影响 HCV 感染的预后。暴露于 HCV 后, 约 15%~20% 的感染者可以通过 HCV 触发的宿主反应产生干扰素(IFN)或表达 IFN 调节基因而清除病毒; 有 80%~85% 的感染者, 因 HCV

[△] 通讯作者, E-mail: zhangpingan@yahoo. com. cn。

触发宿主反应不但干扰信号传导,而且影响 IFN 和 IFN 调节基因的表达。HCV 可在机体内经历复制、选择、多样化和适应的过程,病毒蛋白干扰宿主反应,导致 IFN 减少、IFN 调节基因的表达和功能衰减,抗原递呈细胞和免疫细胞的功能发生改变,最终导致持续性 HCV 感染^[2]。研究表明,HCV 感染过程中,TLRs 与 HCV 相互作用,参与了机体的免疫反应及肝脏病理生理变化。

2 TLRs

TLRs 蛋白最早在果蝇中发现,是模式识别受体 (PRR) 家族的一员,属于 I 型跨膜蛋白受体。TLRs 蛋白在果蝇抗细菌和真菌感染中起重要作用,它们能区分“自己”与“非己”成分,产生具有抗微生物活性的多肽^[3]。目前在哺乳动物中已知的 TLRs 家族成员有 11 种,它们多表达于哺乳动物抗原提呈细胞及上皮细胞。与果蝇的 Toll 样蛋白一样,TLRs 亦属于 I 型跨膜蛋白受体,主要由 3 个功能区构成:胞外区、跨膜区和胞内区,并广泛存在于细胞膜表面和细胞质内。胞外区主要由富含亮氨酸的重复序列组成,行使识别和结合病原体或其产物,激发机体非特异性免疫反应的功能;跨膜区是富含半胱氨酸的结构域;TLR 的胞内区在结构上与白细胞介素 (IL)-1 受体高度同源,称为 Toll 样 IL-1 结构域 (TIR),介导细胞内的信号传递,在蛋白之间的相互作用过程中意义重大^[4]。

TLRs 能够识别病毒核酸、细菌、螺旋体、原生动物成分,合成化合物及宿主的自身成分,介导信号转导途径,刺激细胞因子的产生,从而启动机体的天然和获得性免疫反应。TLRs 与配体结合后,主要通过两条途径活化下游的信号^[5],一条为髓样分化蛋白 88 (MyD88) 依赖性信号传导途径,另一条为 MyD88 非依赖性信号传导途径。在哺乳动物中,所有的 TLRs (除 TLR3 外)均可通过 MyD88 介导下游的信号传导,最终分泌各种细胞因子、炎性介质、抗炎介质,从而使微生物清除、吞噬或引起微生物的凋亡。同时 TLRs 还参与聚集白细胞,呈递抗原递呈细胞和活化 B 细胞、T 细胞等过程^[6]。因此,TLRs 在先天性免疫和获得性免疫中发挥了重要的作用^[6-8]。

3 TLRs 与 CHC

HCV 主要通过 TLRs 的识别和刺激诱导机体的抗病毒反应,同时也调控或是直接干扰 TLRs 的信号传导,以此来逃避机体的清除,促进慢性感染的形成。TLRs 参与丙型肝炎的慢性化可能存在下列机制:

3.1 TLRs 下游信号传导通路受阻 体外研究已经证实,TLR3 能够识别双链 RNA,激活核因子- κ B (NF- κ B) 和干扰素调节因子 3 (IRF3),从而诱导合成促炎细胞因子、I 型干扰素和大量的干扰素刺激基因 (ISGs)。由于 HCV 在复制过程中可以形成双链 RNA,可被 TLR3 识别。Wang 等^[9]的研究显示,人类肝脏细胞原位表达大量 TLR3,在 Poly (I : C) (TLR3 的激动剂)刺激后,原代肝脏细胞和 Huh7 细胞的 ISGs 表达明显上调。位于肝细胞瘤的 TLR3 能够识别 HCV,激活非依赖的维 A 酸诱导基因 (RIG),诱导 IRF3 的激活,合成 ISGs,抑制 HCV 的复制。同时,HCV 通过介导蛋白酶 NS3/4A 使诱导 IFN- β 的 Toll 样 IL-1 受体结构域 (TRIF) 表达减少,TRIF 是 TLR3 关键性的受体,一旦 TRIF 减少,直接损伤了 Poly (I : C) 诱导的信号通路。在肝细胞瘤细胞系中,HCV 诱导或阻碍 TLR3 的通路可能是决定感染结局及其保持持续性感染能力的一个重要因素。Abe 等^[10]发现在老鼠的巨噬细胞表达 NS3、NS3/4A、NS4B、NS5A 蛋白,能抑制 TLR2、TLR4、TLR7 和 TLR9 的信号途径。他们首次提出 NS5A 蛋白区域上的干

扰素敏感结构域 (ISDR) 和 MyD88 相互作用,抑制细胞因子的产生。这些研究均支持 HCV 蛋白结构能干扰 TLRs 通路。

3.2 改变 TLRs 的表达和功能 Wang 等^[11]研究表明,CHC 患者可通过上调 TLR2、TLR4 表达改变固有免疫。使用 TLR2、TLR4 激动剂后,CHC 患者外周血单个核细胞表达大量的细胞因子,上调表达的细胞因子和调节因子减缓了外周血单个核细胞的抗病毒作用。上调的炎症因子可能有增加免疫病理的风险,导致过免疫和组织损伤。而 Chang 等^[12]在 HCV 干扰的人类肝脏细胞系中的研究显示,HCV 利用某种机制参与了机体的免疫逃避,此研究证明 HCV 感染者 TLR7 的表达、TLR7 mRNA 的稳定性及功能均发生了改变。在表达 HCV 的肝细胞瘤细胞中 TLR7 mRNA 和蛋白表达减少,这一发现可以从 CHC 患者的肝脏中得到证实,用 IFN- α 清除 HCV 或限制培养条件,可以恢复表达减少的 TLR7。对 HCV 复制的细胞使用 RNA 聚合酶抑制剂后,TLRs 的半衰期缩短。在 HCV 阳性的细胞中,TLR7 下游的 IRF7 核转运水平增加。用 TLR7 配体 R837 处理细胞,然而,在 HCV 复制的细胞 IRF7 是衰减的。TLR7 表达减少,是源于其 RNA 的不稳定,直接和 HCV 复制有关,改变了 TLR7 诱导的 IRF7 介导的细胞激活。

3.3 对 TLRs 失去耐受 TLRs 的耐受机制较为复杂。目前,IFN- γ 破坏 TLRs 的耐受机制尚不清楚。Dolganiuc 等^[13]发现 CHC 患者的单核细胞具有高反应性,失去对 TLRs 配体的同源或异源耐受。在 CHC 体内的细胞因子通过微环境影响单核细胞和组织巨噬细胞对 TLR 配体的反应能力。他们的研究揭示了一种 HCV 持续性感染机体的新机制,即免疫介导的炎症。Chung 等^[14]证实,核心蛋白激活 TLR2 后,不但介导随后的 TLR2 激活的同源耐受,而且介导 TLR4 激活的异源耐受。众多研究数据显示从 HCV 感染者分离出的抗原递呈细胞,以及 TLR2 和 TLR4 配体的细胞因子反应受到损害。表明 TLR2、TLR4 介导干扰的促炎细胞因子,可能参与了 HCV 的持续感染。

3.4 其他方式 Dolganiuc 等^[15]研究表明,HCV 的核心蛋白和 TLR2 结合,促进细胞因子 IL-10、肿瘤坏死因子 (TNF- α) 的释放,而这些细胞因子引起 IFN- α 的释放减少,促进浆样树突状细胞的凋亡,从而可能导致病毒的持续感染。Hoffmann 等^[16]阐述了 HCV 多倍体的核心蛋白作为包膜核衣壳的组成部分可能通过两种机制逃避宿主的先天性免疫反应:(1)完整的病毒颗粒核心蛋白可能采取了一种不被 TLR2 识别的形式;(2)在具有传染性 HCV 微粒中包膜糖蛋白类损害了 TLR2 对 HCV 核心蛋白感应,促进了持续性病毒感染。

总之,在 TLRs 与 HCV 相互作用的过程中,不同的研究从不同的方面解释了 HCV 持续性感染的原因,有些观点相互支持,有些结论尚不一致,有待做进一步研究,以期阐明丙型肝炎慢性化的原因。

4 问题与展望

近年来国内外许多学者对 TLRs 介导的信号传导途径与 HCV 感染进行了大量的研究,这些研究多数是在 HCV 感染的细胞培养模型中进行的。虽然细胞培养模型为研究 HCV 感染慢性化的分子机制和丙型肝炎治疗位点提供了依据,但仍存在一些问题:首先,不同的研究选择了不同的模型,同一处理措施在不同的细胞系中结果不同,这一点可以从 Khvalevsky 等^[17]的实验中可以得到证实;其次,HCV 与机体相互作用是一个复杂的过程,细胞培养模型并不能真实反应 HCV 与机体的相互作用;最后,HCV 感染者的肝脏组织获取较难。

TLRs 激动剂已进入临床前和临床实验中,这些激动剂可以快速诱导细胞因子的反应。因此,在 HCV 患者中使用 TLRs 激动剂可以提高抗病毒免疫^[18]。艾沙托立宾(isatoribine)是选择性 TLR7 的激动剂,HCV 患者使用后可以诱导免疫激活,能使血清中 HCV RNA 下降 2 倍,而且不良反应的发生率也随之下降^[19]。在 CHC 患者中使用 TLR7 的激动剂经历了三个阶段,即瑞喹莫德^[20]、选择性 TLR7 激动剂艾沙托立宾和小分子 TLR7 激动剂 RF-4878691^[21]。随着对 TLRs 研究的深入,必将对抗病毒感染取得新的突破,并对 HCV 的临床治疗提供一定的指导作用。

参考文献

[1] Ashfaq UA, Javed T, Rehman S, et al. An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses[J]. Virol J, 2011, 8: 161.

[2] Gale M Jr, Foy EM. Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus[J]. Nature, 2005, 436(7053): 939-945.

[3] Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors[J]. Annu Rev Immunol, 2003, 21: 335-376.

[4] Slack JL, Schooley K, Bonnert TP, et al. Identification of two major sites in the type I interleukin-1 receptor cytoplasmic region responsible for coupling to pro-inflammatory signaling pathways[J]. J Biol Chem, 2000, 275(7): 4670-4678.

[5] Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling[J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(7): 499-511.

[6] Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses[J]. Nat Immunol, 2004, 5(10): 987-995.

[7] Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response[J]. Nature, 2000, 406(6797): 782-787.

[8] Barton GM, Medzhitov R. Toll-like receptor signaling pathways[J]. Science, 2003, 300(5625): 1524-1525.

[9] Wang N, Liang Y, Devaraj S, et al. Toll-like receptor 3 mediates establishment of an antiviral state against hepatitis C virus in hepatoma cells[J]. J Virol, 2009, 83(19): 9824-9834.

[10] Abe T, Kaname Y, Hamamoto I, et al. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A modulates the toll-like receptor-MyD88-dependent signaling pathway in macrophage cell lines[J]. J Virol, 2007, 81(17): 8953-8966.

[11] Wang JP, Zhang Y, Wei X, et al. Circulating Toll-like receptor

(TLR) 2, TLR4, and regulatory T cells in patients with chronic hepatitis C[J]. APMIS, 2010, 118(4): 261-270.

[12] Chang S, Kodys K, Szabo G. Impaired expression and function of toll-like receptor 7 in hepatitis C virus infection in human hepatoma cells[J]. Hepatology, 2010, 51(1): 35-42.

[13] Dolganiuc A, Norkina O, Kodys K, et al. Viral and host factors induce macrophage activation and loss of toll-like receptor tolerance in chronic HCV infection[J]. Gastroenterology, 2007, 133(5): 1627-1636.

[14] Chung H, Watanabe T, Kudo M, et al. Hepatitis C virus core protein induces homotolerance and cross-tolerance to Toll-like receptor ligands by activation of Toll-like receptor 2[J]. J Infect Dis, 2010, 202(6): 853-861.

[15] Dolganiuc A, Chang S, Kodys K, et al. Hepatitis C virus (HCV) core protein-induced, monocyte-mediated mechanisms of reduced IFN-alpha and plasmacytoid dendritic cell loss in chronic HCV infection[J]. J Immunol, 2006, 177(10): 6758-6768.

[16] Hoffmann M, Zeisel MB, Jilg N, et al. Toll-like receptor 2 senses hepatitis C virus core protein but not infectious viral particles[J]. J Innate Immun, 2009, 1(5): 446-454.

[17] Khvalevsky E, Rivkin L, Rachmilewitz J, et al. TLR3 signaling in a hepatoma cell line is skewed towards apoptosis[J]. J Cell Biochem, 2007, 100(5): 1301-1312.

[18] Thomas A, Laxton C, Rodman J, et al. Investigating Toll-like receptor agonists for potential to treat hepatitis C virus infection[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(8): 2969-2978.

[19] Horsmans Y, Berg T, Desager JP, et al. Isatoribine, an agonist of TLR7, reduces plasma virus concentration in chronic hepatitis C infection[J]. Hepatology, 2005, 42(3): 724-731.

[20] Pockros PJ, Guyader D, Patton H, et al. Oral resiquimod in chronic HCV infection; safety and efficacy in 2 placebo-controlled, double-blind phase IIa studies[J]. J Hepatol, 2007, 47(2): 174-182.

[21] Fidock MD, Souberbielle BE, Laxton C, et al. The innate immune response, clinical outcomes, and ex vivo HCV antiviral efficacy of a TLR7 agonist (RF-4878691)[J]. Clin Pharmacol Ther, 2011, 89(6): 821-829.

(收稿日期: 2011-11-22)

• 综 述 •

间充质干细胞移植在肿瘤治疗中的应用

褚玉新, 宋启斌[△]综述, 姚 颀, 许 斌 审校
(武汉大学人民医院肿瘤中心, 武汉 430060)

关键词: 肿瘤; 间质干细胞; 干细胞移植
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 12. 025

文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2012)12-1463-04

癌症是世界范围内导致死亡的头号杀手。治疗癌症的传统方法是手术切除、化疗、放疗。随着生物医学技术不断进步, 在分子、细胞、组织水平上出现了众多靶向治疗癌症的方法。但是, 癌症患者的总体治愈率没有明显改善。大多数癌症患者依然死于肿瘤复发、转移, 以及治疗相关的并发症。医学界迫

切需要更理想的癌症治疗策略。
间充质干细胞(MSC)是一类成体干细胞, 可以从骨髓或脐带血中分离得到, 在体外可以迅速扩增, 高度自我复制, 有强大的旁分泌功能。很多研究显示, MSC 参与特异性肿瘤转移, 提示 MSC 可作为抗癌药物运输的载体。本文将综述近些年来

[△] 通讯作者, E-mail: 347952582@qq. com.