

[15] Guan K. Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis[J]. *Nature*, 2006, 440(10): 1199-1203.

[16] Yamazaki Y. Adult mice cloned from migrating primordial germ cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(32): 11361-11366.

[17] Hernandez L. Paternal and maternal genomes confer opposite effects on proliferation, cell-cycle length, senescence, and tumor formation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(23): 13344-13349.

[18] Chambers I, Smith A. Self-renewal of teratocarcinoma and embryonic stem cells[J]. *Oncogene*, 2004, 23(43): 7150-7160.

[19] Li XY, Kato Y. Comparative analysis of development-related gene expression in mouse preimplantation embryos with different developmental potential[J]. *Mol Reprod Dev*, 2005, 72(2): 152-160.

[20] Boyer LA. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells[J]. *Cell*, 2005, 122(6): 947-956.

[21] Loh YH. The Oct4 and Nanog transcription network regulates pluripotency in mouse embryonic stem cells[J]. *Nat Genet*, 2006, 38(4): 431-440.

[22] Xie H. Stepwise reprogramming of B cells into macrophages[J]. *Cell*, 2004, 117(5): 663-676.

[23] Baba Y, Garrett K, Kincade PW. Constitutively active beta-catenin

· 综 述 ·

蛋白质组学在胚胎领域的应用概述^{*}

眭维国¹, 史舟芳², 陈洁晶¹综述, 戴 勇^{3△}, 薛 雯¹审校

(1. 中国人民解放军第 181 医院肾脏科、全军计划生育优生优育技术中心、广西代谢性疾病研究重点实验室, 广西桂林 541002; 2. 广西师范大学生命科学学院, 广西桂林 541002;
3. 深圳市人民医院, 广东深圳 518020)

关键词:辅助生殖技术; 组学; 胚胎; 蛋白质组; 分泌蛋白质组学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.043

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)07-0964-04

人类辅助生殖技术 (assisted reproductive technologies, ART) 对于临床不孕不育的治疗无疑是 20 世纪的一项伟大成就。在辅助生殖技术中对配子和胚胎的非侵入性的评估是一个焦点^[1]。选出最适合移植的胚胎是人工辅助生殖成功的重要部分, 通常筛选胚胎的方法是对胚胎进行系统的形态学评估^[2-3]。尽管这种方法相对成熟, 并且提高了怀孕率, 但它自身的缺陷仍然使超过 70% 的体外受精胚胎未能在母体内发育。因此, 人工辅助生殖技术将可能从众多的胚胎发育能力鉴定方法中获益, 从而进一步提高女性怀孕率并使日常的单胚胎移植成为可能^[4]。

在组学(包括转录组学、基因组学、蛋白质组学和代谢组学)技术的最新研究进展中, 技术平台敏感性的提高使得运用分子手段选择胚胎成为可能。人类特别关注对胚胎蛋白质组的评估, 它展现了胚胎的细胞功能和生理机能之间的联系。另外, 胚胎分泌蛋白质组学分析为胚胎评估提供了非侵入性的方法^[1]。在本文中, 综述讨论了蛋白质组学在人类胚胎分泌蛋白组学鉴定中的角色及其在体外受精领域的潜在适用性和重要性。鉴定和分析胚胎分泌蛋白组学也将拓展我们有关于早期胚胎形成的知识, 推动人类了解有关胚胎在植入过程中的作用。

confers multilineage differentiation potential on lymphoid and myeloid progenitors[J]. *Immunity*, 2005, 23(6): 599-609.

[24] Kondo T, Raff M. Oligodendrocyte precursor cells reprogrammed to become multipotential CNS stem cells[J]. *Science*, 2000, 289(16): 1754-1767.

[25] Bachoo RM. Epidermal growth factor receptor and Ink4a/Arf: convergent mechanisms governing terminal differentiation and transformation along the neural stem cell to astrocyte axis[J]. *Cancer Cell*, 2002, 1(3): 269-277.

[26] Hochedlinger K. Ectopic expression of Oct-4 blocks progenitor-cell differentiation and causes dysplasia in epithelial tissues[J]. *Cell*, 2005, 121(3): 465-477.

[27] Chambers I. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells[J]. *Cell*, 2003, 113(5): 643-655.

[28] Li ET, Bestor H, Jaenisch R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality[J]. *Cell*, 1992, 69(6): 915-926.

(收稿日期:2014-11-25)

1 蛋白质组学和胚胎

人类蛋白质组由超过 100 万个蛋白质组成, 其特征包括蛋白质的表达水平, 翻译后的修饰, 蛋白与蛋白相互作用以及蛋白质活性都会由于自身和外部条件刺激的影响而不断改变。蛋白质组控制细胞功能并包含从每个细胞的特定基因表达产物翻译得到的所有蛋白质^[5]。因此, 关于蛋白质自身的研究对于充分了解生物过程和细胞功能是至关重要的。

尽管最近蛋白质组学技术有所发展, 但人类所掌握的胚胎蛋白质组知识仍然非常有限。有限的模板、低浓度蛋白质、技术平台敏感性不高、有限的蛋白质数据库信息等, 仍是研究中的主要障碍。分泌蛋白质组是指由细胞在特定时间产生和分泌的蛋白质, 它对于试图鉴别涉及特殊疾病状态的蛋白质的研究人员来说有着特殊的意义^[6-7]。在人类辅助生殖技术中, 分泌蛋白质组包括由胚胎产生并分泌到周围培养基的蛋白质。对这些胚胎分泌的蛋白质的蛋白质组评估可以促进非侵入性的胚胎筛选方法的产生, 从而提高人工辅助生殖的成功率^[8]。目前来看, 这项技术无疑是一项具有挑战性的工作, 但随着蛋白质组学技术的发展有望实现。

2 分泌蛋白质组和单蛋白质分析

在人类胚胎蛋白质组的初步研究中, 主要进行的是对个别

* 基金项目: 广西重点实验室建设项目计划资助项目(13-051-31)。

△ 通讯作者, E-mail: daiyong2222@gmail.com。

作者简介: 眇维国, 男, 主任医师, 主要从事重大疾病分子机理研究。

蛋白或分子的分析。瘦素是一种相对分子质量为 16 000 的多肽。它是在研究胚胎和子宫内膜上皮细胞之间的相互作用时,在囊胚培养基中被发现的^[8]。在植入窗时期,瘦素被认为可以启动并建立一种与母体内的瘦素受体的分子对话机制^[9]。在试管中进行培养时,具有活性的胚胎所分泌的瘦素的浓度要高于活性较差的胚胎所分泌瘦素的浓度。同源盒基因-10 是另一种蛋白质,它在胚胎和子宫内膜相互作用时起到一定作用,它可能会影响胚胎的发育和子宫内环境的改变。同源盒基因-10 是由子宫内膜上皮产生的,同时又被人类囊胚所分泌的其他未知可溶性分子所调节^[10]。

首个被鉴定的可溶性因子是血小板活化因子。它是哺乳动物的胚胎在胚胎植入前的发育过程中产生的,并在自分泌方式中作为胚胎发育的早期营养/生存因素。血小板活化因子的释放也会影响一系列母系生理机能改变,包括母体免疫功能的改变和血小板的激活^[6]。

人类卵母细胞和胚胎在 mRNA 和蛋白质水平上均能产生人类白细胞抗原 G 的猜测已被证实^[10-11]。人类胚胎和其他白细胞抗原 G 的表达之间的关联因素也影响着人工辅助生殖的妊娠结果^[12],一些期刊已经报道了在胚胎所利用的培养基中出现可溶性白细胞抗原 G 与成功受孕之间的联系。可溶性白细胞抗原 G 结合目前的形态学评估可能会为预测胚胎质量和成功植入胚胎提供一个非侵入性的市场^[13]。然而,这些结果还没得到肯定,一些反对该观点的学者的研究表明,利用在培养基中未检测到可溶性白细胞抗原 G 并且临床可溶性白细胞抗原 G 阴性的胚胎使母体成功受孕。因此,存在于胚胎培养上清液中的可溶性白细胞抗原 G,对于选择具有较高移植潜力的胚胎是否存在价值还不可知^[14]。

在胚胎利用培养基时,有很多因素能影响人类白细胞抗原 G 的出现,这些因素包括培养系统、培养基组成、单一性或群体性组织胚胎培养、微滴的体积及培养基收集时间。目前多数用于可溶性白细胞抗原 G 分析的酶联免疫吸附试验敏感性的缺失,成为所观测到的复现性和联系缺乏的原因^[15]。也许需要一种更敏感(微微克级别)和可再生的定量方法,来分析并确定人可溶性白细胞抗原 G、胚胎发育及移植的结果三者之间的重要联系。

3 胚胎分泌蛋白质组的蛋白质谱

综合人体内环境的复杂性,一个合理的假设便是:不可以仅仅根据一个分子来预测胚胎的发育能力或者移植潜能。蛋白质组学技术敏感性的增加及其最新进展,使人们可以更加深入地了解人类胚胎分泌蛋白质组。

质谱分析技术已经迅速成为蛋白质组学领域的一项重要技术。利用质谱分析技术研究不同样本间蛋白质表达的可靠性及可重复性变化,已经揭示了与正常生理过程和疾病状态有关的重要分子机制^[16]。质谱仪包括一个在气相中产生带电粒子的离子源和可以利用荷质比将离子分离的检偏器。恰好与质量分析器平行的离子被检出并放大,然后可以将数据结果利用数据库进行处理并通过荷质比预测某些分子。目前已有的离子化方法包括:电喷雾离子化和基质辅助激光解吸电离。

串联质谱仪可以进一步提供特殊离子的信息并且通常被用于研究链状蛋白质。一般来说,生物样本成分复杂并且在被分析物和蛋白质间显示出很大的动态浓度范围。因此,在进行分析之前,通常先利用诸如液相或气相的分离方法来分离分子或蛋白质。为了能够获得可靠的和可复现的蛋白质组学数据,包括复制中的跑样,定期执行仪器内部和外部校准及在每次跑样时的适当控制等严格的质量控制是最基本的要求^[17]。

此外,由于人类蛋白质组天生的动态性和敏感性,在样品的收集、保存和处理过程中也都必须严格遵守相关操作规范。

有一个 8.5 道尔顿的蛋白质,由于其表达量的增加,从在刚发育的囊胚蛋白质分泌蛋白质组中被发现,这很可能预示着蛋白质和发育能力之间的联系。利用质谱分析和肽链测序鉴定蛋白质的方法对其分析,结果均显示该 8.5 道尔顿的蛋白极可能属于泛素。泛素在大量生理过程中均有涉及,包括增殖、凋亡和移植^[18]。最近有研究表明,在某些疾病状态体液中的泛素分泌会增加,这为其与蛋白质周转的增加之间的联系提供了证据^[19-20]。

此外,Katz-Jaffe 等^[21]使用属于飞行时间分析器的一种表面增强激光解吸/电离平台,首次成功地分析了个人胚胎的蛋白质分泌蛋白质组的结构。在着床前(从受精到囊胚期)的发育中,每 24 小时可以观察到不同的蛋白质结构。在胚胎发育的第一天内可以观察到特有的母体蛋白。在发育的第 3 天,随着胚胎基因组的激活,特有的胚胎蛋白在人的胚胎蛋白组中被检测到。蛋白质表达结构、发育阶段和胚胎形态三者间的联系已经被观测到。退化中的胚胎的蛋白质分泌蛋白质组的结构显示,一些急剧升高的生物指标与凋亡和生长抑制路径有关,而这些生物指标可以通过分子重量及查阅数据库来预测^[21]。另外,在 MS 技术也有一些其他有前景的蛋白质组学平台,在胚胎蛋白质分泌蛋白质组的描述中得到运用。

蛋白质微阵列为转录组研究提供补充信息,而且可以在蛋白质鉴定之前便可进行研究。2008 年 Dominguez 等^[22]利用携带 120 个抗体目标的蛋白质微阵列来分析人类胚胎蛋白质分泌蛋白质组。当与对照培养基对比时,囊胚培养基中的干细胞因子 CXCL13 (B 淋巴细胞化学引诱物)、诱捕受体 1 (TRAILR3)、巨噬细胞炎症蛋白 1 β (MIP-1 β) 及巨噬细胞刺激蛋白 α (MSP- α) 含量出现明显下降。作者猜测之所以观察到的人类囊胚培养条件养基中蛋白质表达量减少,可能是由于这些蛋白质被胚胎所消耗。相反,当培养基中含有囊胚时,培养基中的可溶性肿瘤坏死因子受体 1 和白细胞介素 10 (IL-10) 含量显著增加。更深入的研究表明,当比较事先已植入胚胎和事先未植入胚胎的混合培养基中均植入单胚胎后,CXCL13 和粒细胞巨噬细胞移植刺激因子在事先未植入胚胎的条件培养基中的表达量显著下降。

事实上,当粒细胞巨噬细胞移植刺激因子加入到不论是人或小鼠胚胎培养基中,都显示出它能够促进哺乳动物胚胎的发育并提高移植潜能^[23]。有趣的是,在植入囊胚的条件培养基中未发现有蛋白质表达量的显著增加^[22]。

Dominguez 等^[24]的后续研究比较子宫内膜上皮细胞共培养体系和连续微量培养体系的蛋白质组框架。在子宫内膜上皮细胞共培养体系内的一些蛋白质表达量发生改变包括 IL-6、PLGF、BCL (CXCL13) 表达量的增加和 FGF-4、IL-12p40、VEGF 和 uPAR 表达量的减少。白细胞介素 6 是在 EEC 共培养体系中由子宫内膜上皮细胞自身分泌最多的蛋白质。对生殖细胞微滴培养时所利用的培养基进行白细胞介素酶联免疫吸附试验,与未能致孕的胚胎相比,致孕的胚胎对白细胞介素 6 的摄取量增加,显示了白细胞介素-6 在胚胎发育和移植中的潜在作用^[25]。

双向凝胶电泳结合质谱分析技术也被用于确定人类植入前的胚胎在培养基中消耗的蛋白质。利用这一平台已经观测到载脂蛋白 A1 (ApoA1) 并利用酶联免疫吸附分析法证实。ApoA1 水平的增加和囊胚高的形态学等级有关。然而,还未观测到试管受精结果和胚胎分泌蛋白质组中 ApoA1 的水平间

的联系。

miRNA 是一类短的(长约 20~24 核苷酸)单链非编码 RNA 分子, 分别通过降解靶 mRNA 或者阻遏靶 mRNA 的翻译来调节基因和蛋白质的表达。miRNA 已被证实与许多生物过程有关, 包括发育^[26]、细胞生长^[27]、变异^[28]、和不孕^[29]。在小鼠胚胎发育时, miRNA 是母性遗传的, 伴随着受精卵过度的单或双细胞阶段约 60% 的丢失。在小鼠胚胎植入前的发育中, miRNA 的降解与合成是同时存在的, 随着发育进入囊胚期 miRNA 的含量总体上升^[25]。此外, Katz-Jaffe 等^[30]进一步研究了 miRNA 的分泌是否能协助蛋白质在胚胎与母体对话过程中进行调控。对利用培养基的整倍体囊胚的 miRNA 分析表明, 当囊胚发育时这些微小 RNA 是不分泌的。

非整倍染色体被认为是整个染色体的增加或缺失, 导致大量的自然受孕和辅助生殖受孕的失败。目前, 为移植选择整倍体胚胎(含正常的染色体数目)涉及到胚胎细胞测试, 它是在一种可以保证将来发育的侵入性胚胎活性检测后进行的。发明一种包括检测发育能力和筛查非整倍体的非侵入性胚胎检验方法, 将是胚胎选择方法的一种重要补充。由于整倍体和非整倍体囊胚间存在明显差异, 所以最初的蛋白质分泌蛋白质研究有望实现这一设想。

利用一种液相色谱-质谱技术平台, 可以对与染色体非整倍体有关的胚胎囊胚蛋白质分泌蛋白质组进行更加深入地研究。来源于同生群的可转移质量的囊胚蛋白质分泌蛋白质组中的 9 种新的候选生物标志物也被归为染色体非整倍体。脂质运载蛋白-1(Lipocalin-1)是第一个被鉴定出的用于非整倍体无创检测的潜生物标志物^[31]。Lipocalin-1 拥有大量的多种配体, 在胁迫、炎症和感染条件下会过度产生。利用酶联免疫吸附检验利用培养基的混合及个体胚胎, Lipocalin-1 的表达量增加得到确认^[31]。源于非整倍体囊胚的 lipocalin-1 分泌量的增加可能代表了胚胎自身整体抵抗力的缺乏。反应非整倍体状况, 该小组正在研究的焦点是不断检测不同的生物标志物, 以便可靠地辨别可存活的、不可存活的及非整倍体的囊胚。一旦临床证实, 对于临床体外受精实验室里的常规检测, 利用免疫检测技术的蛋白质组学分析可以具有高度敏感、高通量和低成本等优点。

尽管在蛋白质组技术中已取得很多可喜的结果和进展, 但是有关早期胚胎的分泌蛋白质组的认知仍然很有限。综上所述, 有限的模板、蛋白质表达量低及目前蛋白质组学技术平台敏感性的缺乏是主要的障碍。在寻找非侵入性活性生物标志物时的其他障碍包括在培养基中出现极大量的清蛋白、免疫球蛋白和其他血清蛋白, 这使得鉴定低分泌量的胚胎蛋白变得十分困难。色谱分析法去除这些大量蛋白质的方法已经存在, 它结合多维分离技术为检测胚胎所分泌的蛋白质提供可能^[31-32]。在一般情况下, 在生物标志物的发现过程中的其他难题包括可变因素, 如实验设计和数据解释、研究方法的差异、缺乏标准样品的收集及其保存^[33]。缺少对生物标记物确认的后续研究的另一个限制因素主要是技术限制和样品收集。此外, 对用过的培养基进行蛋白质组学分析需要对胚胎进行单独培养。有关单胚胎培养对发育能力的影响的争论由来已久。然而近些年研究表明, 高的植入率和产活率与针对全面的染色体筛查而进行的单个胚胎培养有关^[34]。

4 结语

虽然有诸多限制, 但是为了提高 ART 成功率, 胚胎发育的蛋白质组学分析仍然被认为是一种很有前景的技术平台。迄今为止包括非蛋白质组学在内还没有非侵入性平台, 这已经

被证明是真正有临床预测价值的或在预测性随机控制试验中被检测优于当前基于形态学的选择方法。也许不仅是在培养基中的活性生物标志物, 定量的非侵入性试验检测胚胎分泌蛋白质组与形态学试验之间的结合, 将最大程度地改善胚胎选择技术、移植和分娩。

参考文献

- [1] Katz-Jaffe MG, McReynolds S, Gardner DK, et al. The role of proteomics in defining the human embryonic secretome[J]. Mol Hum Reprod, 2009, 15(5): 271-277.
- [2] Ebner T, Moser M, Sommergruber M, et al. Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development: a review[J]. Human Reproduction Update, 2003, 9(3): 251-262.
- [3] Racowsky C, Ohno-Machado L, Kim J, et al. Is there an advantage in scoring early embryos on more than one day? [J]. Human Reproduction Update, 2009, 24(9): 2104-2113.
- [4] Seli E, Vergouw CG, Morita H, et al. Noninvasive metabolomic profiling as an adjunct to morphology for noninvasive embryo assessment in women undergoing single embryo transfer[J]. Fertility and Sterility, 2010, 94(2): 535-542.
- [5] De Hoog CL, Mann M. Proteomics[J]. Genomics and Human Genetics, 2004, 5: 267-93.
- [6] O'Neill C. The role of paf in embryo physiology[J]. Hum Reprod Update, 2005, 11(3): 215-228.
- [7] Katz-Jaffe MG, Gardner DK. Embryology in the era of proteomics [J]. Theriogenology, 2007, 68(Suppl 1): S125-130.
- [8] Gonzalez RR, Caballero-Campo P, Jasper M, et al. Leptin and leptin receptor are expressed in the human endometrium and endometrial leptin secretion is regulated by the human blastocyst[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(12): 4883-4888.
- [9] Cervero A, Horcajadas JA, Dominguez F, et al. Leptin system in embryo development and implantation: a protein in search of a function[J]. Reprod Biomed Online, 2005, 10(2): 217-223.
- [10] Yao YQ, Barlow DH, Sargent IL. Differential expression of alternatively spliced transcripts of HLA-G in human preimplantation embryos and inner cell masses[J]. J Immunol, 2005, 175(12): 8379-8385.
- [11] Jurisicova A, Casper RF, MacLusky NJ, et al. HLA-G expression during preimplantation human embryo development[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(1): 161-165.
- [12] Jurisicova A, Casper RF, MacLusky NJ, et al. Embryonic human leukocyte antigen-G expression: possible implications for human preimplantation development[J]. Fertil Steril, 1996, 65(5): 997-1002.
- [13] Vercammen MJ, Verloes A, Van de Velde H, et al. Accuracy of soluble human leukocyte antigen-G for predicting pregnancy among women undergoing infertility treatment: meta-analysis[J]. Hum Reprod Update, 2008, 14(3): 209-218.
- [14] Vercammen M, Verloes A, Haentjens P, et al. Can soluble human leukocyte antigen-G predict successful pregnancy in assisted reproductive technology? [J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2009, 21(3): 285-290.
- [15] Warner CM, Lampton PW, Newmark JA, et al. Symposium: innovative techniques in human embryo viability assessment. Soluble human leukocyte antigen-G and pregnancy success[J]. Reprod Biomed Online, 2008, 17(4): 470-485.
- [16] Dominguez DC, Lopes R, Torres ML. Proteomics: clinical applications[J]. Clin Lab Sci, 2007, 20(4): 245-248.
- [17] Hu J, Coombes KR, Morris JS, et al. The importance of experi-

mental design in proteomic mass spectrometry experiments: some cautionary tales[J]. *Brief Funct Genomic Proteomic*, 2005, 3(4): 322-331.

[18] Wang HM, Zhang X, Qian D, et al. Effect of ubiquitin proteasome pathway on mouse blastocyst implantation and expression of matrix metalloproteinases-2 and-9[J]. *Biol Reprod*, 2004, 70(2): 481-487.

[19] Delbosc S, Haloui M, Louedec L, et al. Proteomic analysis permits the identification of new biomarkers of arterial wall remodeling in hypertension[J]. *Mol Med*, 2008, 14(3): 383-394.

[20] Sandoval JA, Hoelz DJ, Woodruff HA, et al. Novel peptides secreted from human neuroblastoma: useful clinical tools? [J]. *J Pediatr Surg*, 2006, 41(2): 245-251.

[21] Katz-Jaffe MG, Schoolcraft WB, Gardner DK. Analysis of protein expression (secretome) by human and mouse preimplantation embryos[J]. *Fertil Steril*, 2006, 86(6): 678-685.

[22] Dominguez F, Gadea B, Esteban FJ, et al. Comparative protein-protein analysis of implanted versus non-implanted human blastocysts[J]. *Hum Reprod*, 2008, 23(19): 1993-2000.

[23] Robertson SA. GM-CSF regulation of embryo development and pregnancy[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2007, 18(3-4): 287-298.

[24] Dominguez F, Gadea B, Mercader A, et al. Embryologic outcome and secretome profile of implanted blastocysts obtained after coculture in human endometrial epithelial cells versus the sequential system[J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(6): 774-782.

[25] Yang Y, Bai W, Zhang L, et al. Determination of microRNAs in mouse preimplantation embryos by microarray [J]. *Dev Dyn*, 2008, 237(22): 2315-2327.

[26] Tang F, Kaneda M, O'Carroll D, et al. Maternal microRNAs are essential for mouse zygotic development[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(6): 644-648.

[27] Carleton M, Cleary MA, Linsley PS. MicroRNAs and cell cycle regulation[J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(17): 2127-2132.

[28] Lakshmipathy U, Love B, Goff LA, et al. MicroRNA expression pattern of undifferentiated and differentiated human embryonic stem cells[J]. *Stem Cells Dev*, 2007, 16(10): 1003-1016.

[29] McCallie B, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. Aberration of blastocyst micro-RNA expression is associated with human infertility [J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(23): 2374-2382.

[30] Katz-Jaffe MG, McReynolds S. Embryology in the era of proteomics[J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(10): 1073-1077.

[31] McReynolds S, Vanderlinde L, Stevens J, et al. Lipocalin-1: a potential marker for noninvasive aneuploidy screening [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(26): 2631-2633.

[32] Jarkovska K, Martinkova J, Liskova L, et al. Proteome mining of human follicular fluid reveals a crucial role of complement cascade and key biological pathways in women undergoing in vitro fertilization[J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(12): 1289-1301.

[33] Xiao GG, Recker RR, Deng HW. Recent advances in proteomics and cancer biomarker discovery[J]. *Clin Med Oncol*, 2008, 2(1): 63-72.

[34] Schoolcraft WB, Treff NR, Stevens JM, et al. Live birth outcome with trophectoderm biopsy, blastocyst vitrification, and single-nucleotide polymorphism microarray-based comprehensive chromosome screening in infertile patients[J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(6): 638-640.

(收稿日期:2014-11-18)

• 综述 •

人乳头瘤病毒高危型感染与宫颈癌的研究进展

杜伟平,李颖综述,李芳芹审校

(延安大学附属医院,陕西延安 716000)

关键词:人乳头瘤病毒高危型; 宫颈癌; 研究进展**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.044**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)07-0967-03

宫颈癌是妇女常见的恶性肿瘤^[1-5],现已成为仅次于乳腺癌导致妇女死亡的肿瘤。全球范围内每年有超过 20 万的女性死于宫颈癌,而发展中国家占到了 75% 以上。宫颈癌的病因学研究近些年得到各国研究人员的重视。流行病学调查发现早婚、早育、多产及性生活紊乱的妇女有较高的患病率,城乡结合部患病率较高。我国由于人口众多,卫生资源相对短缺,地区发展严重不平衡,所以每年新发病例非常多,约占到全世界的 30%,当然随着近年医疗技术的不断发展,检出率也在逐年提高。现在国内每年约有 2 万多名妇女因为宫颈癌而病亡,宫颈癌初期没有任何症状,而后期发现时多已严重。目前以手术和放射治疗为主要手段,但是临床发现晚期患者治愈率非常低。所以如何能早期发现宫颈癌已成为摆在医务工作者面前的课题。

1 HPV 的分子结构及生物学特性

人乳头瘤病毒(HPV)是一类具有高度宿主特异性和亲和力的病毒,该病毒无包膜,含小的双股环状 DNA,属乳头瘤

空泡病毒科。其 DNA 包括 3 个部分,分别是 E 区(早期基因区)、L 区(晚期基因区)以及 LCR 区(长控制区)。E 区(早期基因区)分 1、2、6、7 四个亚区,6、7 区与病毒细胞转录、生长及繁殖有很大关系,是主要的致癌基因。2 亚区与 NCR 共同参与完成病毒基因的表达。目前已经分离出超过 100 种 HPV 基因型^[6],根据病毒促进细胞癌变能力大小的不同分为两种:高危型 HPV(HR-HPV)和低危型 HPV(LR-HPV)。LR-HPV 有包括 LR-HPV1、6、11、42、43 等在内的共 11 种亚型,会引起如良性外生性疣等女性生殖器的良性病变。HR-HPV 有 14 种,包括 HR-HPV16、18、31、33 和 35 等多种亚型,主要与女性生殖器的恶性病变的发生、发展有关。而且文献报道 HPV 感染的亚型在不同地区的分布并不相同,其具有一定的地域性差异。

2 高危型 HPV 感染与宫颈癌的关系

流行病学研究充分表明高危型 HPV 的感染与宫颈癌的