

• 综 述 •

HPV E6 基因与阴茎癌发生相关机制的研究进展*

谢莉莉, 刘忠伦 综述, 谈 笑[△] 审校

(蚌埠医学院附属连云港东方医院, 江苏连云港 222000)

关键词: 人乳头瘤病毒; 阴茎癌; E6; P53; 端粒酶; PDZ 蛋白; mRNA**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.09.025**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2017)09-1225-03

人乳头瘤病毒(human papilloma viruses, HPV)是一种特异性嗜鳞状上皮性的小 DNA 病毒,是宫颈癌的主要致病因素,并与其他恶性肿瘤数量的增长密切相关^[1]。

阴茎癌(penile cancer, PC)发病率低,全球每年大约有 26 300 例^[2]新发病例。阴茎癌的发病机制至今仍未完全明确。证据表明,阴茎癌有两个致病因素:(1)HPV 感染;(2)其他相关的其他因素包括包茎、包皮过长、慢性炎性、硬化性苔藓等。估计 40%~50% 的阴茎癌是 HPV 感染所致^[3]。

HPV 引发的肿瘤的特点是存在早期蛋白 E6、E7 的表达, E6、E7 作为癌基因贯穿恶性肿瘤的发展进程^[4]。本文就 HPV E6 基因与阴茎癌发生相关机制进行综述。

1 HPV E6 与 P53

野生型 P53 是一种抑癌基因,具有调控细胞周期、修复 DNA 及诱导细胞凋亡的作用^[5]。在肿瘤组织中, P53 常发生突变,成为突变型 P53,失去抑癌作用,并在肿瘤的发展进程中起作用。P53 在肿瘤中作用主要有野生型 P53 的降解和突变型 P53 的高表达。HPV E6 蛋白通过泛素连接酶形成复合物, 然后与 P53 结合, p53 蛋白进行泛素化分解^[6]。HPV 介导的 P53 降解需要 E6/E6AP/P53 结构, E6 蛋白与 E6AP 的 LxxLL motif 相互作用, E6AP 的 LxxLL motif 通过在 E6 上构建 P53 结合裂,使 E6 能与 P53 结合^[7]。

近来的研究表明, LxxLL motif 结合到 E6 的一个由蛋白的氨基端和羧基端锌结合区域(E6N、E6C)和螺旋连接器构成的保守袋上^[8]。使用作用于 LxxLL pocket 和 P53 结合裂的药物,能有效破坏 E6/E6AP/P53 复合物,从而可能打断 HPV 致癌的途径^[9]。研究者观察到结肠癌组织中 HPV 阳性率 73%, 且均有 HPV E6 的表达, 75% HPV 阳性的肠癌细胞中未表达野生型 P53^[10], 在头颈癌细胞中, 检测到突变型 P53 高表达而野生型 P53 低表达^[11]。在许多疾病中, 突变型 P53 与基因的不稳定性、预后不良、化疗不敏感有关。研究者观察到 P53 突变蛋白抑制肿瘤细胞自噬囊泡的形成, 抑制自噬相关蛋白如 BECN1、DRAM1、ATG12、SESN1/2 和 PAMPK、P50/突变 P53 蛋白复合物抑制 atg12 基因的表达, 认为突变型 P53 在肿瘤发展中的机制主要是突变型 P53 抑制了肿瘤细胞自噬, 突变型 P53 对肿瘤细胞自噬的抑制增加了肿瘤细胞的增殖^[12]。对肿瘤细胞自噬的研究, 有望成为 HPV 相关肿瘤治疗的新靶点。

P63 是 P53 家族成员, 存在于有增殖能力的细胞中(如基底细胞), 是角质细胞增殖能力的标志之一。HPV 感染可能活化 p63 基因, 促使角质形成细胞异常增殖^[13]。

2 HPV E6 与端粒酶

端粒酶(Telomerase)是在细胞中负责端粒延长的一种酶,

在不同物种细胞中对维持染色体稳态和细胞活性方面起重要作用。端粒酶主要由人端粒酶 RNA(HTR)、端粒酶相关蛋白 1(hTPI)和端粒酶逆转录酶(hTERT)3 部分组成。hTERT 是端粒酶的关键亚基, 是端粒酶活性的限速决定子。

翟建坡等^[14]报道 hTERT 蛋白表达与阴茎癌淋巴结转移呈显著正相关, 认为 hTERT 蛋白表达可能是阴茎癌区域淋巴结转移的独立预后因素, 可为阴茎癌临床进展的风险及预后判断提供参考。

HPV16 E6 激活 hTERT 启动子^[15], 通过激活端粒酶造成细胞永生、增加癌细胞的侵袭和转移能力, 促进癌的发生, hTERT 启动子含有 2 个 E 盒(CACGTG), 直接参与癌基因激活与端粒酶活化。

E6 蛋白还可通过以下途径提高 hTERT 的表达: 通过 c-Myc 介导 hTERT 启动子激活前, E6 可能通过去除抑制因子或改变染色质结构来促进 c-Myc 与 E 盒结合^[16], 使 c-Myc 升高, c-Myc 蛋白可与 hTERT 启动子的 E 盒结合, 并且显著增加 hTERT 启动子活性; 通过 E6AP 介导 HR-HPV 与 E6AP 蛋白结合, 诱导 hTERT 启动子乙酰化^[17], 进而介导 hTERT 的表达并激活端粒酶, E6AP 还可诱导 hTERT 转录激活因子 NFX1-123 的表达^[18], 从而提高 hTERT 的活性; 通过 CpG 岛甲基化作用, hTERT 启动子富含 GC 盒, 形成 5' 调节性 CpG 岛。E6 可诱导 hTERT 甲基化, 使其转录抑制因子结合位点失去功能, 从而促进 hTERT 的表达, 激活端粒酶, 致细胞永生^[19]。

E6 蛋白还可以减少 hTERT 启动子中 Maz(hTERT 抑制因子)的绑定, Maz 的敲弱进一步增加 TERT 的表达^[20]。

3 HPV E6 与 PDZ 蛋白

PDZ 蛋白是生物体内广泛分布的一类蛋白, 包含特征性“PDZ 结构域”(盘状同源区域), 多位于细胞质内和膜衔接蛋白^[21]。与细胞骨架有广泛的联系, 参与调节细胞增殖、细胞连接、细胞凋亡^[22]。

在果蝇中的研究发现含有 PDZ 结构域的基质的缺失可导致上皮细胞的超过度增殖和致癌性转化, PDZ 蛋白可认为是潜在的肿瘤抑制性蛋白^[23]。E6 蛋白通过其独特的 PDZ 识别基团^[24]。与 PDZ 蛋白结合, 引起该蛋白降解, 导致肿瘤的发生和转移。

E6 降解 hDIg、hScib, 而 hDIg、hScib 被认为是重要的抑癌蛋白。E6 蛋白降解 PDZ 主要通过其羧基端的 PBM(PDZ binding motif), E6 蛋白通过 PBM 与细胞的 PDZ 基板连接。至少有 10 种 PDZ 基板, 包括 PSD95、PAJT、MUPP1、TIP 1、TIP2、PTPN3、PTPN13、CAL 等, 研究表明 E6 降解 PDZ 基板具有高度的 HPV 类型特异性, 由于 PBM 的微小差别能显著

* 基金项目: 连云港市社会发展项目(SH1421); 蚌埠医学院研究生创新计划项目(BYYCX1521)。

[△] 通信作者, E-mail: 421362779@qq.com。

影响 PDZ 靶标的确定。HPV18 E6 优先结合到 hDIg, 而 HPV16 E6 优先结合到 hScib, 但是高浓度的 E6 能识别任何一种 PDZ 基板。研究表明, MAGI-1、DIg、Scrib 均被 E6 降解, 发现 MAGI-1 是 E6 的主要降解靶标。hDIg、hScib、PTPN3、TIP2、FAP1 和 PSD95 均对 E6 介导的降解显示不同程度的敏感性, 而 MAGI-1 的降解导致细胞紧密连接完整性的破坏^[25], 有利于肿瘤的浸润和转移。实验研究表明, HPV E6 癌蛋白通过降解 MAGI-1, 破坏细胞紧密连接, 是 E6 致癌的重要机制。

4 E6 与 miRNA

miRNA 是具有调控功能的非编码 RNA, 通过与靶 mRNA 的特异性碱基配对能引起靶 mRNA 的降解、抑制或活化, miRNA 的异常表达在大多数的人类肿瘤中都存在, 在一些肿瘤中是致癌的, 而在另一些类肿瘤组织中却起抑癌作用^[26]。目前 HR-HPV E6 作用机制的研究主要着重于 E6-p53-miRNA 通路。E6 可降解 P53, 而 P53 可结合到很多 miRNA, 如 miR-34a、miR-23b 等特异性结合位点, 促进这些 miRNA 的表达。miR-34a 影响很多细胞周期调控因子如 cyclinE1、cyclinD1、CDK4、CDK6、E2F1、E2F2、BCL-2 等, E6 介导的 P53、miR-34a 的下降, 失去了对细胞衰老和凋亡的控制, 促进了细胞增殖和恶性转化^[27-28]。

研究发现, E6 能调控 miRNA 的表达, E6 能上调 miR-92, 从而促进肿瘤细胞生长与转移^[29]。相反, miRNA 也会调控 E6 的表达。研究发现 miR-129-5P 可下调 E6 的表达, 抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡^[30]。小干扰 RNA 能降低 E6mRNA 水平, 恢复 P53 功能, 从而提高放疗、化疗的疗效^[31]。

5 HPV E6 与 E5、E7

HPV E6 和 E7 是促使细胞永生化的必需癌基因, E5 蛋白可增强其致癌作用。近期研究显示 HPV E5 基因可促进人永生化的口腔上皮细胞增殖, 并对 E6、E7 基因 mRNA 表达有一定的上调作用^[32]。Hu 等^[33]发现高危型 HPV E5 基因可诱导细胞融合产生双核细胞, 低危型 HPV E5 则不能, HPV E5 与 E6、E7 基因共表达时可促进细胞融合形成双核细胞。以此认为 HPV E5 基因可能在肿瘤的发生阶段发挥作用, E6 和 E7 基因则在稍后阶段辅助肿瘤形成。

此外 E5 和 E6、E7 共同作用能下调钙黏蛋白的表达, 而钙黏蛋白的下调是恶性肿瘤进展的征兆^[34]。

6 小 结

对 HPV E6 与与阴茎癌相关发病机制的研究, 开发相应的检测产品, 用于阴茎癌及 HPV 相关肿瘤的诊断、疗效观察及预后判断; 针对 LXXLL Pocket、P53 结合裂、小干扰 RNA, 开发靶点针对性药物, 用于阴茎癌及 HPV 相关肿瘤的治疗; 以及对于 HPV 疫苗的研制均有广阔的前景。

参考文献

- [1] Zur HH. Papillomavirus and cancer: From basic studies to clinical application[J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(2): 242-350.
- [2] Furman D, de Maael C, Laeey CJ, et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases[J]. Vaccine, 2012, 30(Suppl 5): F12-F23.
- [3] Hernandez BY, Goodman MT, Unger ER, et al. Human papillomavirus genotype prevalence in invasive penile cancers from a registry-based United States population [J]. Front Oncol, 2014, 4(1): 12-19.
- [4] Smotkin D, Wettstein FO. Transcription of human papillomavirus type16 early genes in a cervical cancer and a

- cancer-derived cell line and identification of the E7 protein[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83(40): 4680-4684.
- [5] Thompson AM, Lane DP. P53 transcriptional pathways in breast cancer: the good, the bad and the complex [J]. Pathol, 2010, 220(4): 401-403.
- [6] Lehoux M, Dabramo CM, Archambault J. Molecular mechanisms of human papillomavirus-induced carcinogenesis [J]. Public Health Genomics, 2009, 12(2): 268-280.
- [7] Denise MZ, Francesc XR, Juline P, et al. Structure of the E6/E6AP/P53 Complex required for HPV-mediated degradation of P53 [J]. Nature, 2016, 529(5): 541-545.
- [8] Zanier K. Structural basis for hijacking of cellular LxxLL motif by papillomavirus E6 oncoprotein [J]. Science, 2013, 339(6): 694-698.
- [9] Francesc X. Structure of the E6/E6AP/P53 complex required for HPV-mediated degradation of P53 [J]. Nature, 2016, 529(5): 541-545.
- [10] Tan-Hsia C, Chi-chou H, Kun-Tu Y, et al. Human papilloma virus 16 E6 oncoprotein associated with inactivation in colorectal cancer [J]. World J Gastroentero, 2012, 18(30): 4051-4058.
- [11] SiZhe F, Romin R, Guobiao L, et al. The expression levels of XLF and mutant P53 are inversely correlated in head and neck cancer cells [J]. Journal of cancer, 2016, 7(11): 1374-1382.
- [12] Cordani M, Oppici E, Dando I, et al. Mutant P53 proteins counteract autophagic mechanism sensitizing cancer cells to mTOR inhibition [J]. Molecular Oncology, 2016, 28(10): 1008-1029.
- [13] 张嫦娥, 谭超, 马树斌, 等. TGF- α 和 p63 在尖锐湿疣组织中的检测 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2009, 23(10): 649-651.
- [14] 翟建坡, 李鸣, 王其艳, 等. CD82、hTERT 蛋白的表达及 HPV 感染与阴茎癌的关系研究 [J]. 中华男科学杂志, 2011, 17(9): 817-822.
- [15] Van Doorslaer K, Robert D. Association between hTERT activation by HPV E6 proteins and oncogenic risk [J]. Virology, 2012, 433(1): 216-219.
- [16] Liu X, Dakic A, Chen R, et al. Cell-restricted immortalization by human papillomavirus correlates with telomerase activation and engagement of the hTERT promoter by Myc [J]. J Virol, 2008, 82(23): 11568-11576.
- [17] Xu M, Luo W, Elzi DJ, et al. NFX1 interacts with mSin3A/histone deacetylase to repress hTERT transcription in keratinocytes [J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(15): 4819-4828.
- [18] Katzenellenbogen RA, Vliet-Gregg P, Xu M, et al. NFX1-123 increases hTERT expression and telomerase activity posttranscriptionally in human papillomavirus type 16 E6 keratinocytes [J]. J Virol, 2009, 83(13): 6446-6456.
- [19] Kalantari M, Villa LL, Calleja-Macias IE, et al. Human papillomavirus-16 and -18 in penile carcinomas: DNA methylation, chromosomal recombination and genomic variation [J]. Int J Cancer, 2008, 123(8): 1832-1840.
- [20] Mei Xu, Rachel A, Katzenellenbogen C, et al. An unbiased

- in vivo screen reveals multiple transcription factors that control HPV E6-regulated hTERT in keratinocytes[J]. Virology, 2013, 446(1/2): 17-24.
- [21] Javier RT, Rice AP. Emerging theme: cellular PDZ proteins as common targets of pathogenic viruses[J]. Journal of Virology, 2011, 85(22): 11544-11556.
- [22] Subbiah VK, Kranjec C, Thomas M, Banks L. PDZ domains: the building blocks regulating tumorigenesis[J]. Biochemical Journal, 2011, 439(2): 195-205.
- [23] Bilder D. Epithelial polarity and proliferation control: links from the Drosophila neoplastic tumor suppressors[J]. Genes and Development, 2004, 18(16): 1909-1925.
- [24] Thomas M, Narayan N, Prim D, et al. Human papillomavirus, cervical cancer and cell polarity[J]. Oncogene, 2008, 27(55): 7018-7030.
- [25] Christian K, Lawrence B. A systematic analysis of human papillomavirus (HPV) E6 PDZ substrates identifies MAG I-1 as a major target of HPV type 16(HPV-16) and HPV18 whose loss accompanies disruption of tight junctions[J]. Journal of virology, 2011, 85(4): 1757-1764.
- [26] Zheng ZM, Wang X. Regulation of cellular miRNA expression by human papillomaviruses[J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1809(11/12): 668-677.
- [27] Ribeiro J, Sousa H. MicroRNAs as biomarkers of cervical cancer development: a literature review on miR-125b and miR-34a[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(15): 1525-1531.
- [28] Wang X, Wang HK, McCoy JP, et al. Oncogenic HPV infection interrupts the expression of tumor-suppressive mir-34a through viral oncoprotein E6[J]. RNA, 2009, 15(4): 637-647.
- [29] Yu Y, Zhang Y, Zhang S. MicroRNA-92 regulates cervical tumorigenesis and its expression is upregulated by human papillomavirus-16 E6 in cervical cancer cells[J]. Oncol Lett, 2013, 6(2): 468-474.
- [30] Zhang J, Li S, Yang Q, et al. Interferon- β induced microRNA-129-5P down-regulates HPV-18 E6 and E7 viral gene expression by targeting SPI in cervical cancer cells[J]. Plos one, 2013, 8(12): e81366.
- [31] Tan S, Hougardy BM, Mersma GJ, et al. Human papillomavirus 16 E6 RNA in interference enhances cisplatin and death receptor-mediated apoptosis in human cervical carcinoma cells[J]. Mol Pharmacol, 2012, 81(5): 701-709.
- [32] 侯潇潇, 江彤, 蒋欣泉, 等. HPV16 型 E5 基因对人永生化口腔上皮细胞 E6、E7 基因表达的影响[J]. 上海口腔医学, 2011, 20(4): 368-372.
- [33] Hu L, Plafker K, Vorozhko V, et al. Human papillomavirus 16 E5 induces bi-nucleated cell formation by cell-cell fusion[J]. Virology, 2009, 384(1): 125-134.
- [34] Boulouvar S, Weyn C, Van Noppen M, et al. Effects of HPV-16 E5, E6 and E7 protein on survival, adhesion, migration and invasion of trophoblastic cells[J]. Carcinogenesis, 2010, 31(3): 473-480.
- (收稿日期: 2016-10-23 修回日期: 2016-12-24)
- 综 述 •

阿尔茨海默病血液生物学标志物研究现状

黄志强^{1,2}综述, 王龙海¹, 何其胜^{1△}审校

(1. 四川省达州市中西医结合医院神经内科 635000; 2. 甘肃中医药大学, 兰州 730000)

关键词: 阿尔茨海默病; 血液; 生物学标志物

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 09. 026

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)09-1227-03

阿尔茨海默病(AD)是老年中最常见的痴呆类型, 我国的发病率为 3%~7%, 且随着年龄的增长, AD 患病率逐渐升高。临床上 AD 分为痴呆前期和痴呆阶段; 痴呆前期分为轻度认知功能障碍前期(pre-MCI)和轻度认知功能障碍期(MCI); 痴呆阶段又可分为轻度、中度、重度。大量临床研究发现 AD 患者脑脊液 β 1-42 淀粉样蛋白($A\beta$ 1-42)水平升高, 总 Tau 蛋白和磷酸化 Tau 蛋白增高, 这些研究成果对 AD 的早期诊断具有重要价值。2012 年, 国际阿尔茨海默病协会多名专家联名撰文呼吁^[1]; 研究者应着力寻找 AD 血液生物学标志物, 尤其寻找适合于疑似临床前期或 MCI 患者诊断和筛查的新的血液生物学标志物。本文就 AD 血液生物学标志物的研究现状进行综述。

1 血浆蛋白组学

在神经变形疾病研究领域中, 运用蛋白芯片和质谱法技术检测血清生物标志物取得了突破性进展^[2], Britschgi 等^[3]发现 18 种蛋白分析物中的大部分与脑脊液中的 A 或 Tau 蛋白存在明显相关性。Wu 等^[4]发现, 在 AD 患者血清中, 血浆内淀

粉样前体蛋白裂解酶和可溶性淀粉样前体蛋白显著升高, 对 AD 的诊断可能有价值。多中心研究表明, 在 AD 患者血清中 N 末端脑钠肽原(NT-proBNP)水平升高^[5], 因此 NT-proBNP 似乎是一种 AD 病理相关的分子, 但是 NT-proBNP 也是水肿和心力衰竭的标志物。此外, 炎症谱标志物、微循环标志物, 如肾上腺髓质素前体中段、C 端内皮素前体片段, 这些物质在 AD 组和正常对照组比较时具有良好的诊断价值, 对 MCI 向 AD 进展有潜在的评估作用^[6]。虽然 AD 的血浆蛋白组学生物标志物方面取得了大量研究成果, 但仍缺乏临床试验的标准化水平实施方案, 其可行性还有待观察。

2 血浆脂质组学

和其他神经变形疾病一样, AD 与脂质代谢紊乱也有密切联系。大量研究表明, 血脂参数的变化可能直接影响复杂神经炎症斑和神经原纤维缠结生成的病理过程^[7]。鞘脂类包括神经酰胺、鞘磷脂、硫脂, 这些物质在神经功能中起着主要的作用, 同时也是 AD 病理生理相关生物活性代谢产物^[8]。Han 等^[9]运用鸟枪脂质学方法比较 AD 组与对照组, 发现 AD 组中