

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X·2008·06·015

· 临床研究 ·

## LMP-1、NET-1、VEGF 在非角化性鼻咽癌中的表达及其临床意义

王 燕<sup>1</sup>, 陈 莉<sup>2\*</sup> (1. 南通大学附属医院 放疗科, 江苏 南通 226001; 2. 南通大学 病理学教研室, 江苏 南通 226001)

**[摘要]** 目的: 探讨潜活膜蛋白1(latent membrane protein 1, LMP-1)、NET-1、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在非角化性鼻咽癌(non-keratin nasopharyngeal carcinoma, NK-NPC)中的表达及其临床意义。方法: 取南通大学附属医院1999年5月-2003年5月收治的病理诊断明确的60例NK-NPC活检标本, 采用免疫组织化学技术(Envison二步法)检测LMP-1、NET-1、VEGF的表达, 并分析其与临床病理参数和预后的相关性。另取10例鼻咽慢性黏膜炎症组织作对照。结果: (1)NK-NPC中LMP-1、NET-1、VEGF的表达显著高于鼻咽慢性黏膜炎症组织( $P < 0.05$ ); (2)NK-NPC中, LMP-1表达强度与有无远处转移密切相关( $P < 0.05$ ), 与患者性别、年龄、T分期、N分期无显著相关性( $P > 0.05$ ); NET-1、VEGF表达强度与淋巴结转移、远处转移密切相关( $P < 0.05$ ), 与患者性别、年龄、T分期均无显著相关性( $P > 0.05$ )。 (3)NK-NPC中LMP-1、NET-1、VEGF的表达呈显著相关性( $P < 0.05$ )。 (6)单因素Kaplan-Meier生存曲线分析显示, LMP-1、VEGF表达与NK-NPC的生存率之间的相关性有显著统计学意义( $P < 0.05$ )。结论: LMP-1、NET-1、VEGF的联合检测有助于预测NPC转移与预后, LMP-1和VEGF可作为评估NK-NPC预后的指标之一。

**[关键词]** 非角化性鼻咽癌; 潜活膜蛋白; NET-1; 血管内皮生长因子; 预后

**[中图分类号]** R739.63; R730.54

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2008)06-0575-06

## Expression of LMP-1, NET-1, and VEGF in non-keratin nasopharyngeal carcinoma and its clinical significance

WANG Yan<sup>1</sup>, CHEN Li<sup>2\*</sup> (1. Department of Radiation Oncology, The Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China; 2. Department of Pathology, Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of latent membrane protein-1 (LMP-1), NET-1, and vascular endothelial growth factor (VEGF) in non-keratin nasopharyngeal carcinoma (NK-NPC) and its clinical significance. **Methods:** Sixty biopsy specimens from pathologically-confirmed NK-NPC patients, who were treated in the Affiliated Hospital of Nantong University from May 1999 to May 2003, were included in the present study. Using immunohistochemical techniques (Envison two-step), we examined the expression of LMP-1, NET-1 and VEGF protein in the specimens. The relationship between their expression and clinicopathological parameters and the prognosis was analyzed. Ten specimens of chronic nasopharyngitis served as control. **Results:** (1) The positive rates of LMP-1, NET-1 and VEGF in NK-NPC were significantly higher than those in the chronic nasopharyngitis ( $P < 0.05$ ). (2) The LMP-1 expression in NK-NPC specimens were positively correlated with distant metastasis of NK-NPC ( $P < 0.05$ ), and not correlated with the sex, age, T stages and N stages ( $P > 0.05$ ). (3) NET-1 and VEGF expression in NK-NPC specimens were positively correlated with lymph node metastasis and distant metastasis ( $P < 0.05$ ), and not correlated with the sex, age, and T stages. (4) The expression of LMP-1, NET-1, and VEGF was correlated with each other ( $P < 0.05$ ). (5) Kaplan - Meier survival curve analysis showed that the expression of LMP-1, VEGF was significantly correlated with the prognosis of NK-NPC patients ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Combined examination of LMP-1, NET-1, and VEGF can help to predict NPC metastasis and prognosis. LMP-1 and VEGF might be used as an indicator for prognosis of NK-NPC.

**[Key words]** non-keratin nasopharyngeal carcinoma (NK-NPC); latent membrane protein 1 (LMP-1); NET-1; vascular endothelial growth factor (VEGF); prognosis

[ Chin J Cancer Biother, 2008, 15(6): 575-580 ]

**[作者简介]** 王 燕(1973-), 女, 江苏省海门市人, 硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤放射治疗临床和基础方面的研究

\* Corresponding author. E-mail: b11@ntu.edu.cn

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是我国常见的头颈部恶性肿瘤,有颈淋巴结转移早、远处转移发生率高的特点。放射治疗是 NPC 的首选治疗方法。近 20 年来,随着放射治疗技术的改进和临床经验的积累,早期无远处转移 NPC 的 5 年生存率可达 83% 以上<sup>[1]</sup>;但由于鼻咽部位置隐蔽,患者常无不适症状,早期诊断、早期治疗的比例低,而晚期 NPC 5 年生存率仍徘徊于 30% ~ 50%,治疗失败的主要原因是局部复发和远处转移<sup>[2]</sup>,病灶发展难于控制。

潜活膜蛋白 1(latent membrane protein 1, LMP-1)目前被广泛认为是 EB 病毒的致瘤基因,它能够促进增殖、抑制分化、引起细胞发生恶性转化。研究表明,LMP-1 诱导 COX-2 在鼻咽癌的血管生成中发挥作用,LMP-1 有可能成为 EB 病毒相关肿瘤治疗的分子靶标<sup>[3]</sup>。VEGF 是新生血管形成的主要调控者之一,研究证明抗血管生成的治疗是肿瘤治疗的一个新的途径,并且在临床上取得了一定的效果。实验表明,NET-1 作为增殖相关蛋白在宫颈癌、肝癌中的高表达能够促进癌的恶性进程,提示 NET-1 在预测肿瘤转移及预后方面的价值。

本研究选取放疗敏感的非角化性鼻咽癌(non-keratin nasopharyngeal carcinoma, NK-NPC) 60 例,应用免疫组织化学(Envison 二步法)检测组织中 LMP-1、NET-1、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达情况,分别分析 LMP-1、NET-1、VEGF 的不同表达水平与 NK-NPC 临床病理特征之间的关系,及其与患者的放疗后生存率的关系,为临床提供对 NK-NPC 诊断与预后判断有价值的指标。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例来源

南通大学附属医院 1999 年 5 月至 2003 年 5 月通过间接鼻咽镜活检病理诊断为 NK-NPC 标本 60 例,全部病例血清学检查 EBV 阳性,所有病例诊断后均经根治性放疗,6MV-X 线常规分割,鼻咽照射剂量为每 6 ~ 8 周 60 ~ 80 Gy,阳性颈淋巴结为每 6 ~ 7 周 64 ~ 70 Gy。随访期 36 ~ 74 个月,末次随访时间 2006 年 12 月,随访内容包括体检、间接鼻咽镜检查、鼻咽 CT 或磁共振、胸部 X 片、肝脏 B 超、核素骨扫描、血生化检查。随访中共发现远处转移者 24 例,其中骨转移 12 例、肺转移 5 例、肝转移 2 例、其他部位转移 5 例。60 例 NK-NPC 临床资料完整,男 44 例,女 16 例,患者年龄 18 ~ 79 岁,中位年龄 53

岁。根据临床检查、影像学检查与病理检查判断局部淋巴结与远处转移。按照 2002 年国际抗癌联盟(International Union Against Cancer UICC)分期标准进行分期:T1 7 例,T2 15 例,T3 25 例,T4 13 例;N0 12 例,N1 23 例,N2 22 例,N3 3 例。采集 10 例同期病理诊断为鼻咽慢性黏膜炎的组织作为对照。

### 1.2 主要试剂

鼠抗单克隆抗体 LMP-1 为 neomarkers 公司产品,购自上海晶美生物工程有限公司;NET-1 抗体制备由美国旧金山基因生物技术公司协助完成;鼠抗单克隆抗体 VEGF、高分子量角蛋白 CK5 抗体、Envision 试剂盒、抗体稀释液均购自北京中山生物技术公司。

### 1.3 免疫组化法检测 NK-NPC 中 LMP-1、NET-1、VEGF 的表达

切片脱蜡至水,PBS 冲洗,按照每种一抗的要求进行预处理;抗原修复:用柠檬酸盐缓冲液,微波中火 10 min,流水自然冷却;0.5% 胰蛋白酶消化室温 15 min;每张切片加 1 滴(50  $\mu$ l)3% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,室温下孵育 10 min,以阻断内源性过氧化物酶的活性,PBS 冲洗;除去 PBS 液,每张切片加 1 滴第一抗体,分别用抗体稀释液进行稀释;在室温下孵育 1 h,PBS 冲洗;除去 PBS,每张切片加 1 滴聚合物增强剂(试剂 A),室温下孵育 20 min,PBS 冲洗;除去 PBS 液,每张切片加 1 滴抗鼠/兔聚合物(试剂 B),室温下孵育 30 min,PBS 冲洗;除去 PBS 液,每张切片加一滴新鲜配制的 DAB,室温下显色 5 min,镜下控制染色,蒸馏水冲洗。从自动免疫组化染色仪中取出已染色完毕的切片,苏木精轻微复染,0.1% HCl 分化,自来水冲洗,蓝化,切片经梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封固。

### 1.4 免疫组化染色结果的判断<sup>[4]</sup>

观察染色切片并计数 5 个具有代表性的高倍视野,分别计数 200 个肿瘤细胞中阳性细胞(细胞质、膜或核呈棕黄色)的百分比。并按其比例分级:阴性(-),肿瘤细胞阳性数 10% 以下;弱阳性(+),肿瘤细胞阳性数 11% ~ 25%;阳性(++),肿瘤细胞阳性数 26% ~ 50%;强阳性(+++),肿瘤细胞阳性数 > 50%。

### 1.5 统计学处理

使用 STATE7.0 统计软件,生存率估计采用 Kaplan-Meier 法描绘生存曲线,两组生存率差别比较用 Log-Rank 时序检验。

## 2 结果

### 2.1 NK-NPC 中 LMP-1、NET-1、VEGF 的表达

LMP-1 在肿瘤中阳性表达灶性分布,阳性细胞质或核出现黄染;NET-1 阳性表达以癌巢边缘为主,阳性细胞胞质出现黄染;而 VEGF 阳性分布无规律

呈弥散或巢状,阳性细胞胞浆出现黄染,在癌间质血管内皮上 VEGF 常有微弱表达(图 1)。

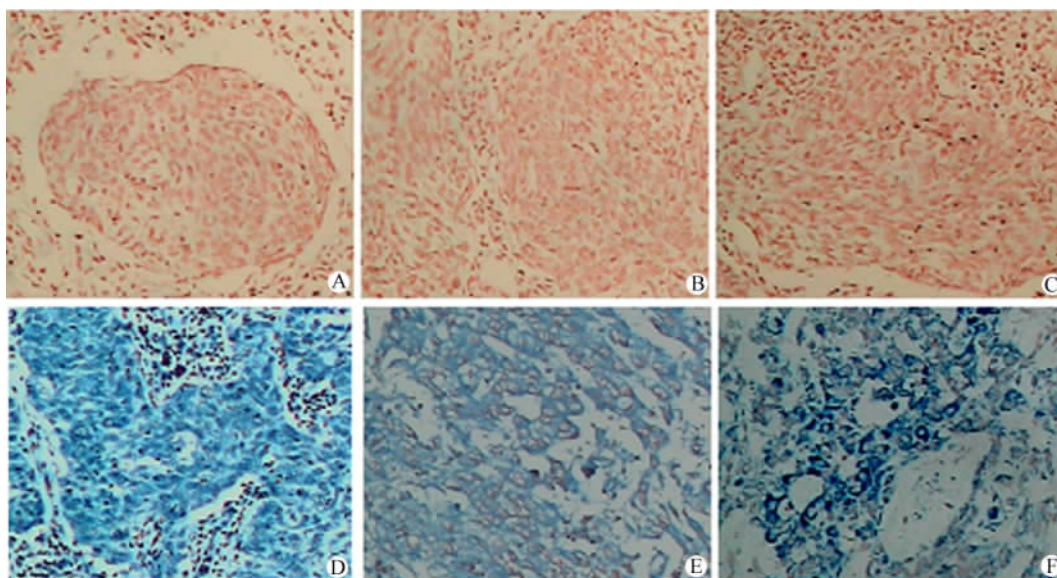


图 1 NK-NPC 中 LMP-1、NET-1、VEGF 的阳性表达 (SP × 200)

Fig. 1 Positive expression of LMP-1, VEGF and NET-1 in non-keratin nasopharyngeal carcinoma (SP × 200)

A: LMP-1 in chronic mucositis; B: NET-1 in chronic mucositis;

C: VEGF in chronic mucositis; D: LMP-1(++) in NK-NPC; E: NET-1(++) in NK-NPC; F: VEGF(++) in NK-NPC

LMP-1、NET-1、VEGF 在鼻咽慢性黏膜炎中表达较弱,阳性检出率也较低,分别为 20% (2/10)、30% (3/10)、30% (3/10);在 60 例 NK-NPC 中 LMP-1、NET-1、VEGF 阳性表达率分别为 83.3% (50/60)、71.7% (43/60)、76% (46/60),显著高于鼻咽慢性黏膜炎症组织中的表达。

## 2.2 NK-NPC 中 LMP-1、NET-1、VEGF 表达与临床病理参数间的关系

NK-NPC 组织中 LMP-1 蛋白的表达与 NK-NPC 患者的年龄、性别、肿瘤分期、有无淋巴结转移无关 ( $P > 0.05$ ),但和远处转移成正相关 ( $P < 0.05$ );NK-NPC 组织中 NET-1 和 VEGF 蛋白的表达与鼻咽癌患者的年龄、性别、肿瘤分期无关 ( $P > 0.05$ ) 但和淋巴结转移、远处转移成正相关 ( $P < 0.05$ )。结果见表 1。

## 2.3 NK-NPC 中 LMP-1、NET-1、VEGF 表达的相关性

在 NK-NPC 组织中 LMP-1 与 VEGF 表达的相关性分析显示,VEGF 46 例阳性中有 44 例 LMP-1 表达阳性,两指标符合率为 95.65%,相关系数为 0.496 4 ( $P < 0.05$ );NET-1 43 例阳性中有 40 例 VEGF 表达阳性,两指标符合率为 93.2%,相关系数为 0.368 3 ( $P < 0.05$ );NET-1 43 例阳性中有 39 例

LMP-1 表达阳性,两指标符合率为 90.69%,相关系数为 0.600 9 ( $P < 0.05$ ),结果说明在 NK-NPC 中 LMP-1、NET-1、VEGF 表达呈显著正相关。

## 2.4 NK-NPC 中 LMP-1、NET-1、VEGF 表达与患者生存率的关系

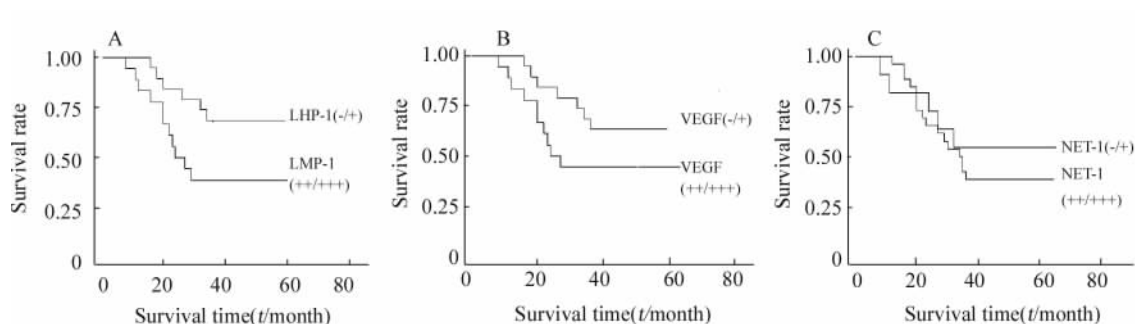
因慢性炎组织中有 20% ~ 30% LMP-1、NET-1、VEGF 的低表达,因此对 NK-NPC 预后分析将(-)和(+)组合并为低表达组以排除炎症反应引起的表达。把(++)与(+++)组定为高表达组,作生存曲线(Kaplan-meier 曲线)分析见图 2。单因素生存分析结果显示 LMP-1、VEGF 阴性表达或低表达者生存期长,高表达组生存期短,差异有显著统计学意义 ( $P < 0.05$ ),而 NET-1 的低表达与高表达组中患者生存率差异未见显著统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

LMP-1 是 EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)表达的具有转化特征的病毒蛋白,生物学功能广泛,涉及细胞转化、增殖、凋亡和分化的各个方面<sup>[5]</sup>。体外实验表明,LMP1 能诱导转基因小鼠皮肤表皮增生,并可抑制表皮细胞的终末分化<sup>[6]</sup>。提示 EBV-LMP1 在上皮细胞肿瘤发生发展中起一定作用。

**表 1 NK-NPC 中 LMP-1、NET-1、VEGF 表达与临床病理参数间的关系**  
**Tab. 1 Relationship of LMP-1, NET-1, and VEGF expression with clinical parameters of non-keratin nasopharyngeal carcinoma**

Parameter	N	LMP-1				P	VEGF				P	NET-1				P
		-	+	++	+++		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
<b>Gender</b>																
Male	44	6	20	12	6		10	14	16	4		11	15	13	5	
Female	16	4	6	5	1	>0.05	4	6	3	3	>0.05	6	3	4	3	>0.05
<b>Age</b>																
≤50	24	7	12	5	0		8	8	6	2		5	9	8	2	
>50	36	3	14	12	7	>0.05	6	12	13	5	>0.05	12	9	9	6	>0.05
<b>Tumor stage</b>																
T1	7	3	4	0	0		3	2	2	0		4	3	0	0	
T2	15	4	6	4	1		5	7	1	2		8	5	1	1	
T3	25	3	12	9	1		3	9	11	2		4	8	10	3	
T4	13	0	4	4	5	>0.05	3	2	5	3	>0.05	1	2	6	4	>0.05
<b>Lymphatic metastasis</b>																
No	12	5	5	2	0		7	4	1	0		6	3	2	1	
Yes	48	5	21	15	7	>0.05	7	16	18	7	<0.05	11	15	15	7	<0.05
<b>Distant metastasis</b>																
No	35	9	22	3	1		11	15	6	3		14	15	3	3	
Yes	25	1	4	14	6	<0.01	3	5	13	4	<0.01	3	3	14	5	<0.05



**图 2 NK-NPC 中 LMP-1、VEGF、NET-1 表达与患者生存率关系**

**Fig. 2 Relationship of LMP-1, VEGF and NET-1 expression with survival rate of NK-NPC patients**

A: LMP-1 and survival rate (  $P < 0.05$  ); B: VEGF and survival rate (  $P < 0.05$  ); C: NET-1 and survival rate (  $P > 0.05$  )

本研究显示, LMP-1 在 NK-NPC 中的表达水平显著高于在鼻咽黏膜慢性炎症组织中, 这一结果说明 NK-NPC 发生与 EB 病毒感染关系密切, 与文献<sup>[7]</sup>报道的 LMP-1 在 NPC 中高表达一致。Tsuji<sup>[8]</sup>等的研究表明, LMP-1 的高表达是癌转移的诱导因素, 与鼻咽癌的淋巴结转移密切相关。Sheen 等<sup>[9]</sup>发现在 NPC 复发组中 LMP-1 阳性率为 77.8%, 而在鼻咽局部控制组中 LMP-1 阳性率为 20.0%。在本研究中, NK-NPC 有淋巴结转移组的 LMP-1 阳性

表达率高于无淋巴结转移组, 随着肿瘤分期的升高, LMP-1 阳性表达率增加, 但差异未达到统计学意义。把肿瘤按有无颅底破坏分成 T3-4(有颅底破坏组)和 T1~2(无颅底破坏组), LMP-1 在有颅底破坏组的阳性表达率高于无颅底破坏组 (  $P < 0.05$  ), 提示 NK-NPC 中 LMP-1 的高表达与癌的侵袭转移有关, 可增强癌细胞与基底膜的黏附能力、运动能力及侵袭能力。预后分析发现 LMP-1 低表达者生存时间长, 而高表达者生存时间短 (  $P < 0.05$  ), 提示 LMP-1

能预测 NPC 转移风险,表明 LMP-1 是评价 NK-NPC 预后的有效指标。

NET-1 与 NET 2-7 一起统称为 NET-x,是由 Seru 等<sup>[10]</sup>2000 年在 EST 数据库中发现的 7 个新的含 4 个跨膜区域蛋白超家族( transmembrane 4 superfamily 或 tetraspan family, 简称 TM4SF )的成员<sup>[10]</sup>。研究表明 NET-1 基因 mRNA 在宫颈癌、肺癌、结肠癌和乳腺癌等肿瘤中有表达,在前列腺癌组织中也发现有 NET-1 的高表达<sup>[11]</sup>; Volker 等<sup>[12]</sup>也报道 NET-1 的表达水平与宫颈癌恶性程度呈正相关,与癌组织分化程度呈负相关,提示该基因在判断肿瘤细胞增殖能力和预后方面具有一定的价值。然而到目前为止,关于 NET-1 在鼻咽癌中的表达未有相关报道。

本研究运用免疫组化的方法,检测 NET-1 在 NK-NPC 和鼻咽黏膜慢性炎症组织中表达情况。结果,NET-1 在鼻咽黏膜慢性炎症组织中表达阳性率 30%,而在 NK-NPC 中表达阳性率为 71.6%,NET-1 在 NK-NPC 中阳性表达率显著高于在鼻咽慢性炎症中( $P < 0.05$ )。NK-NPC 中表达 NET-1 基因蛋白的阳性细胞分布在癌巢周边或间质的散在癌细胞,证明 NET-1 蛋白与癌增殖与浸润有关。陈莉等<sup>[13]</sup>在研究肝癌中 NET-1 蛋白表达与其临床病理因素的关系时发现:NET-1 表达与肝癌病理分级和临床分期呈显著正相关,提示 NET-1 作为一种膜或胞质蛋白可能传导细胞分裂的信号和(或)引起细胞异向分化或失分化,NET-1 蛋白表达明显上调癌恶性进展的过程。本研究结果显示,NET-1 的表达与 NK-NPC 的淋巴结转移及远处转移密切相关,有淋巴结转移组、远处转移组的 NET-1 的阳性表达率、表达强度高于无淋巴结转移组,差异有显著意义( $P < 0.05$ )。提示 NET-1 作为肿瘤基因相关蛋白在癌细胞质中积聚,赋予了癌细胞更显著的侵袭和转移潜能,它可能成为判断淋巴结转移及评估预后的一个预测性标志物。

VEGF 又称血管通透性因子( vascularpermeability-increasing factor, VPF ),是一种功能强大,且能产生多种生物效应的细胞因子。正常情况下,VEGF 仅在少数组织中(如肺泡表面,肾小球,肾皮质,心肌细胞)有表达,而多种肿瘤组织的 VEGF 表达明显高于正常组织。大量研究表明 VEGF 与 NPC 微血管密度(MVD)存在密切关系。隋军等<sup>[14]</sup>用免疫组化法测 MVD 和 VEGF,发现两者在 NPC 中存在正相关并在淋巴结转移中扮演着重要角色。研究还发现,多种基因和细胞因子能促进 NPC 血管生成,其主要的机

制是通过上调 VEGF 表达来实现的。Jaeckel<sup>[15]</sup>报道,COX-2 的肿瘤血管生成作用与 VEGF 有关,COX-2 的抑制剂可使 LMP-1 阳性的 NPC 细胞 VEGF 表达减少。陆雪官等<sup>[16]</sup>报道,乏氧诱导因子-1(HIF-1)和 VEGF 的表达常提示 NPC 患者预后不良。Li<sup>[17]</sup>研究表明,VEGF 是 NPC 强有力的独立的预后预测因子。

本研究采用免疫组化方法检测 VEGF(主要是 VEGF165 亚型)在 NK-NPC 和鼻咽慢性黏膜炎症组织中表达情况,结果发现,VEGF 在 NK-NPC 中的表达水平显著高于鼻咽黏膜慢性炎症组织( $P < 0.05$ ); VEGF 阳性表达率在 NK-NPC 颈淋巴结转移和无颈淋巴结转移组分别为 88% 和 68.6%,远处转移与无远处转移组分别为 85.5% 与 41.7%,两组阳性表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),VEGF 高表达与 NPC 颈淋巴结转移关系密切,且更容易出现远处转移。单因素生存分析显示 VEGF 高表达组长于 3 年生存率均低于 VEGF 低表达组,因此在 NK-NPC 组织中检测到 VEGF 高表达常提示患者预后不良。

谭永年<sup>[18]</sup>等利用稳定细胞系和 tet-on-LMP1-HNE2 细胞系进行的研究表明,LMP-1 无论是在稳定细胞系还是可控表达细胞系,VEGF 能够随 LMP-1 的表达而表达,证实 LMP-1 在 NPC 细胞中可以调控 VEGF 的表达。本研究显示 LMP-1、NET-1、VEGF 三者 in NK-NPC 中的表达显著相关;认为 EB 病毒编码的 LMP-1 能够通过多种途径调控 VEGF 的表达,从而参与 NPC 细胞的侵袭与转移,LMP-1 能协同 NET-1 促进细胞增殖的作用,而 VEGF 的促血管生成作用,为细胞增殖提供了基础。

本研究表明:在 NPC 患者中开展 LMP-1、NET-1、VEGF 的联合检测,有助于预测 NPC 转移与预后,为临床干预措施提供依据。LMP-1 和 VEGF 可作为 NK-NPC 预后判断的参考指标之一。

## [ 参 考 文 献 ]

- [1] Lee AW, Sze WM, Au JS, et al. Treatment results for nasopharyngeal carcinoma in the modern era: the Hong Kong experience[ J ]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2005, 61(4):1107-1116.
- [2] 殷蔚伯,谷铎之. 肿瘤放射治疗学. 第 3 版. 北京:协和医科大学出版社,2002. 569.
- [3] 欧小波,陈小毅,罗伟仁,等. EB 病毒 LMP1 对人鼻咽癌细胞转移能力的影响[ J ]. 癌症,2008, 27(8):803-808.
- [4] 许良中,杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[ J ]. 中国癌症杂志,1996,(4):229-231.
- [5] Lo AK, Liu Y, wang XH, et al. Alterations of biologic properties and gene expression in nasopharyngeal epithelial cells by the Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein[ J ]. Lab In-

- vest, 2003, 83(5):697-709.
- [6] Fähræus S, Rvmo L, Rhim JS, *et al.* Morphological transformation of human keratinocytes expressing the LMP gene of Epstein-Barr virus[J]. *Nature*, 1990, 345(6274): 447-449.
- [7] See HS, Yap YY, Yip WK, *et al.* Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP-1) 30-bp deletion and Xho I-loss is associated with type III nasopharyngeal carcinoma in Malaysia[J]. *World J Surg Oncol*, 2008, 15(2):6-18.
- [8] Tsuji A, Wakisaka N, Kondo S, *et al.* Induction of receptor for advanced glycation end products by EBV latent membrane protein 1 and its correlation with angiogenesis and cervical lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 4(17):5368-5375.
- [9] Sheen TS, Ko JY, Chang YL, *et al.* Nasopharyngeal swab and PCR for the screening of nasopharyngeal carcinoma in the endemic area: a good supplement to the serologic screening[J]. *Head Neck*, 1998, 20(8):732-738.
- [10] Serru V, Dessen P, Boucheix C, *et al.* Sequence and expression of seven new tetraspans[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1478(1): 159-163.
- [11] 陈莉, 朱远源. NET-1 基因在人体组织中表达[J]. *中华国际医学杂志*, 2003, 3(4):294-296.
- [12] Wollscheid V, Kühne-Heid R, Stein I, *et al.* Identification of a new proliferation associated protein NET-1/c4.8 characteristic for a subset of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2002, 99(6):771-775.
- [13] 陈莉, 沈爱国, 王桂兰, 等. 肝癌及相关组织中 NET-1 基因与蛋白的表达[J]. *癌症*, 2006, 25(3):320-325.
- [14] 隋军, 李晓江. 鼻咽癌中血管内皮生长因子 C 的表达与淋巴结转移的关系[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2008, 43(7):524-528.
- [15] Jaeckel EC, Raja S, Tan J, *et al.* Correlation of expression of cyclooxygenase-2, vascular endothelial growth factor, and peroxisome proliferator-activated receptor delta with head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2001, 127(10): 1253-1259.
- [16] Xueguan L, Xiaosheng W, Yongsheng Z, *et al.* Hypoxia inducible factor-1 alpha and vascular endothelial growth factor expression are associated with a poor prognosis in patients with nasopharyngeal carcinoma receiving radiotherapy with carbogen and nicotinamide[J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2008, 20(8):606-612.
- [17] Li YH, Hu CF, Shao Q, *et al.* Elevated expressions of survivin and VEGF protein are strong independent predictors of survival in advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. *J Transl Med*, 2008, 6: 1.
- [18] 谭运年, 陶永光, 李力力, 等. EB 病毒潜伏膜蛋白 1 在鼻咽癌细胞中通过 STAT3 促进 VEGF 表达[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2004, 31(5):427-431.
- [收稿日期] 2008-09-08 [修回日期] 2008-12-01  
[本文编辑] 王莹

· 科技动态 ·

## MicroRNA-203 在基因或表观遗传水平的沉默可增强 ABL1 和 BCR-ABL1 癌基因的表达

MicroRNAs(miRNA)是一类长 18~25 nt 的非编码 RNA,可以靶向于特异性 mRNA 的 3'-UTR 区,通过抑制 mRNA 的翻译或直接引起其降解来沉默对应的靶基因,从而调节各种各样的生物学过程。但是对于 miRNA 的表达在哺乳动物细胞中如何被调控了解还不多。

近年研究表明,人类恶性肿瘤中存在 miRNA 的表达失调。而在各种人类恶性肿瘤中,miRNA 表达水平的变化与 DNA 拷贝数的高频突变之间存在相关性。另外,一些 miRNA 还可以通过表观遗传学机制被下调表达。

西班牙国立癌症研究中心细胞分化与癌症研究小组的 Maria J. Bueno 等学者将 miRNA 的表达水平与疾病中基因水平及表观遗传水平的变化关联起来,发现由于基因缺失或启动子区甲基化程度增高造成 miR-203 下调表达后,可引起其靶基因 ABL1 和 BCR-ABL1 的上调表达,从而导致以费城染色体阳性(Ph<sup>+</sup>)为特征的慢性髓系白血病(CML)和一些儿童 B 细胞白血病的发生。作者首先通过比较基因组杂交技术(CGH)和杂合性丧失(LOH)的分析确定了一段在小鼠 T 细胞恶性肿瘤中经常缺失的片段,该片段约 7 Mb,富含 miRNAs。通过基因芯片对该区段包含 miRNAs 表达谱的分析,确定 miR-203 在小鼠 T 细胞淋巴瘤中下调明显,在未缺失该片段的 T 细胞淋巴瘤中,miR-203 转录起始位点(TSS)的甲基化程度增高。根据基因芯片中的 miR-203 预测靶蛋白表达谱的变化,以及 miR-203 直接作用于靶蛋白 mRNA 的 3'-UTR 区的实验证据,证明促进细胞增殖的 ABL1 是 miR-203 的靶蛋白。

miR-203 的 pri-miR 和 TSS 在人和小鼠之间非常保守,实验分析了人 miR-203 的 TSS 甲基化程度,发现明显增高。Ph<sup>+</sup> 会导致组成型活化的酪氨酸激酶 BCR-ABL1 融合蛋白的产生。miR-203 TSS 甲基化增高,引起 miR-203 下调,进而引起 BCR-ABL1 增高,导致肿瘤产生。在其他 ABL1 高表达的肿瘤中,miR-203 TSS 甲基化也增高。通过联合使用去甲基化药物和去乙酰化酶抑制剂,miR-203 增加,BCR-ABL1 或 ABL1 下调表达,K562 等细胞株生长速度受到抑制。

研究结果不仅证明了 miRNAs 能够调节肿瘤特异蛋白的表达,也为 Ph<sup>+</sup> 的恶性肿瘤及 ABL1 过表达的肿瘤(包括一些急性淋巴细胞性淋巴瘤或白血病)提供了辅助治疗的可能。

[李冬摘译,刘秋燕审阅. Bueno MJ, Perez de Castro I, Gomez de Cedron M, *et al.* *Cancer Cell*, 2008, 13(6):496-506.]