

## 溃疡性结肠炎癌变机制的研究进展

### Progresses of research on mechanism of carcinogenesis in ulcerative colitis

吕忠霖 综述;陈国江 审阅(解放军军事医学科学院基础医学研究所 免疫学研究室 北京 100850)

[摘要] 溃疡性结肠炎作为一种慢性炎症性疾病,在严重降低患者生活质量的同时,其难治性与易癌变的特性也给医学研究带来了相当大的挑战。目前的研究表明,其炎症反应在肿瘤形成的不同阶段均发挥着极为重要的作用,包括肿瘤的出现、生长、侵袭和转移。深入探究和揭示炎症向肿瘤转变的细胞与分子机制,将为设计和开发治疗溃疡性结肠炎癌变的新方案奠定理论基础,本文就溃疡性结肠炎相关结直肠癌形成机制研究的最新进展作一综述。

[关键词] 溃疡性结肠炎;炎症相关性结直肠癌;炎症相关细胞因子;肿瘤免疫

[中图分类号] R730.23; R735.3<sup>+</sup>4

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)06-0852-06

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因未明的慢性非特异性肠道炎症性疾病,病变主要局限于大肠黏膜与黏膜下层,范围多累及远段结肠,并可向近段逆行发展,以至累及全结肠。患者表现为腹泻、腹痛及黏液血便等症状。其发病率近年有上升的趋势<sup>[1]</sup>。UC 还有易发癌变的特质,结肠炎相关结肠癌(colitis-associated cancer, CAC)较散发性大肠癌的发病率高4~10倍。其在欧美等发达国家的常见恶性肿瘤中排第3位,居病死原因的第2位。目前,结直肠癌的治疗主要采取以手术治疗为主,辅以放疗、化疗和靶向治疗,但5年生存率仍徘徊在50%上下<sup>[2]</sup>。之前对于CAC等大多数肿瘤的研究主要关注肿瘤细胞与组织本身,对UC和CAC发病的相关因素、癌变机制及预防监测措施的研究尚有局限性。最近十年来,人类对于炎症/肿瘤免疫反应的认识愈加深,对结直肠癌发病机制也进行了深入的探究,逐渐阐明该肿瘤发生的细胞与分子机制,发现和确认了许多潜在的干预靶点,尤其是许多关于结肠慢性炎症与肿瘤发生的研究取得了突破性进展。本文就溃疡性结肠炎到相关性结直肠癌过程中有关机制的研究进展作一综述。

### 1 溃疡性结肠炎流行病特点

目前,溃疡性结肠炎患者已在罹患结直肠癌的高危人群之列,其患肿瘤的高风险已得到业界共识,但文献报道中癌变的风险程度差异较大。炎症环境被认为在慢性UC癌变的发病机制中起重要作用,Yashiro等<sup>[3]</sup>进行了116项病例统计分析研究,发现UC病程延长会增加患结直肠癌的概率;CAC的风险自UC发病后的8到10年开始增加,UC发

病10年后概率为1.6%,20年后概率为8.3%,30年后概率为18.4%,UC癌变总体发生率为3.7%(95% IC:3.2%~4.2%),美国和英国的发病率高出欧美其他地区。而Chen等<sup>[4]</sup>分析近10年640例UC病例,结果显示:UC并发重度不典型增生或结肠癌的仅9例(1.4%);Zhao等<sup>[5]</sup>报道近10年343例UC并不典型增生或结肠癌病例为8例(3.3%)。UC-CAC的发病年龄相对较小,Antoniou等<sup>[6]</sup>报道,CAC的平均诊断年龄是50.9岁,相较同地区散发性结肠癌的诊断年龄早10~15年。这可能与UC本身发病年龄较小有关。而性别因素方面,Delaunoy等<sup>[7]</sup>和Francescone等<sup>[8]</sup>报道2/3的UC-CAC患者是男性,但是结果仍有争议<sup>[9]</sup>。

### 2 溃疡性结肠炎癌变基本进程

溃疡性结肠炎,由慢性炎症开始,历经炎症增生、不典型增生、腺癌进展演变至腹腔侵袭性转移的“炎-癌”序列演变过程,涉及多级系统、多个阶段、多条信号转导通路、多重基因分子调控机制的复杂网络。如果这个复杂网络中有任意节点的改变,可能是一个细胞因子的异常表达,也可能是一群细胞的

[基金项目] 国家“973”课题资助项目(No. 2015CB553704);国家自然科学基金资助项目(No. 81272320,81472647)。Project supported by the National Program on Key Basic Research Project of China (973 Program)(No. 2015CB553704), and the National Natural Science Foundation of China (No. 81272320,81472647)

[作者简介] 吕忠霖(1991-),男,山西晋中人,硕士生,主要从事肿瘤生物学及免疫治疗基础研究,E-mail: lz1910526@126.com

[通信作者] 陈国江(CHEN Guojiang, corresponding author), E-mail: guogangch@yahoo.com

异常活动,都有可能影响溃疡性结肠炎癌变的发展速度与程度,甚至可能影响到疾病预后及转归。

溃疡性结肠炎常常伴随病理学异型增生的诊断。UC 与异型增生的关系分为 3 种:异型增生阴性型(正常黏膜或黏膜伴再生改变)、异型增生不确定型和异型增生阳性型(低至高度)。UC 癌变过程中各种基因的改变与散发性结直肠癌(sporadic colorectal cancer, SCC)间存在着一定差异,主要表现在基因表达频度差异和时间顺序方面<sup>[10]</sup>。在 SCC 发病过程中,通常认为 APC 基因(结肠腺瘤性息肉病基因)在癌变早期发生突变,以启动癌变,而疾病中期 *k-ras* 基因突变,晚期 *p53* 基因突变使病变进一步发展<sup>[11]</sup>。而在 UC-CAC 发病过程中,*p53* 的突变可能是早期事件,APC 突变在 SCC 发生、发展中所起作用小,而且一般发生在 UC-CAC 的病程晚期,*k-ras* 基因的突变率在 UC-CAC 中较低,所起作用不大<sup>[12]</sup>。Wnt 信号通路的激活是疾病发展的一个早期事件,其与 APC 基因突变相关性较小,而与  $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -Catenin)则有更加密切的联系<sup>[13]</sup>。APC 基因在 UC-CAC 的低突变率及晚期才发生突变的现象可以解释 UC-CAC 中平坦型病变较常见,而不同于 SCC 中常见的腺瘤息肉状病变。

溃疡性结肠炎癌变过程中的分子事件与结肠腺瘤-结肠癌经典途径中的分子事件有相似之处,其中 P-连环蛋白(P-Catenin)和 *p53* 的过表达更为显著,表明 wnt 途径中 P-catenin 的激活在溃疡性结肠炎癌变过程中有十分重要的作用。而 *p53* 的过表达更与病程有显著相关性<sup>[14]</sup>,提示其可能早期即参与癌变过程,并不断积累突变效应。

在溃疡性结肠炎癌变过程中各种癌变基因相关蛋白所起的作用也各有不同,在溃疡性结肠炎相关性结肠癌、溃疡性结肠炎、结肠癌、结肠腺瘤之间 E-连环蛋白(E-catenin)的表达量存在显著差异,而 APC 和 *wnt-1*<sup>[15]</sup>在以上病种之间的表达则无明显差异。表明在癌变发生机制中, E-catenin 在 wnt 途径中的激活较 APC 和 *wnt-1* 重要。*p53* 基因表达的 P53 蛋白在不同病程的溃疡性结肠炎病变组织中的表达与病程相关<sup>[16]</sup>,随病程延长而阳性率升高。

UC 病情进展中,由多种炎性介质(细胞因子、环氧酶、活性氧簇和氮簇等)组成的肿瘤微环境通过对肿瘤基因(如 *p53*)、表观遗传学(如 CpG 岛甲基化)、各种信号通路的影响,在促进肠上皮细胞炎症反应的同时也增加了上皮细胞异型增生的风险。核转录因子 NF- $\kappa$ B 和信号转导与转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription3,

STAT3)在其中发挥了重要的作用,其中, NF- $\kappa$ B-IL-6-STAT3 的级联反应是一条可以使肿瘤细胞存活并且促进其增生的重要信号转导通路<sup>[17]</sup>。

### 3 溃疡性结肠炎癌变机制的研究进展

#### 3.1 染色体不稳定性在溃疡性结肠炎癌变中的影响

染色体不稳定(chromosomal instability, CIN)在 UC-CAC 发生中为早期事件,且发生率高<sup>[18]</sup>。DNA 异倍体是 CIN 的一个表型,而 CIN 则可引起其他染色体水平的改变,如染色体缺失、扩增、易位等,且与 SCC 的特征存在较大差异,如在染色体臂的增减方面,*5p* 的增加及 *17q* 或 *5q* 的缺失要较 SCC 中常见,而 *14q* 的缺失等则相反<sup>[19]</sup>。在 SCC 中异倍体发生时间是癌前病变的腺瘤阶段,其发生率约为 54% ~ 80%<sup>[20]</sup>。而在 UC-CAC 中,异倍体发生的时间更早,且分布相对较广,可以发生在组织学上无异型增生的黏膜中。而 UC 癌变中 CIN 的重要机制之一可能与结肠慢性炎症中产生高水平的活性氧(reactive oxygen species, ROS)而导致端粒缩短有关<sup>[21]</sup>。

#### 3.2 炎症相关免疫细胞及细胞炎性因子在溃疡性结肠炎癌变中的影响

肥大细胞(mast cell, MC)在 CAC 发展过程中所起的推动作用已有报道,是重要的免疫调节细胞。然而目前尚不清楚从结肠炎到癌变的进展中起关键作用的 MC 亚型,因为黏膜肥大细胞(mucosal mast cell, MMC)不同于结缔组织肥大细胞(connective tissue mast cell, CTMC),在稳态和炎症条件下都能维护肠屏障功能。而最近的研究发现,MMC 数量和特异蛋白酶基因在诱导型结直肠癌小鼠模型中表达量显著增加。MMC 激活后的产物肥大细胞蛋白酶(mast cell protease-1, MCP-1)不仅导致 CD11b<sup>+</sup> Gr1<sup>+</sup> 炎性细胞在结肠癌组织中的积累,同时也调节 CD11b<sup>+</sup> Gr1<sup>+</sup> 细胞的活动,从而促进肿瘤细胞生长并抑制 T 细胞活化。以上研究结果表明,MMC 激活、招募和调节的 CD11b<sup>+</sup> Gr1<sup>+</sup> 细胞可使 CAC 病情进展,且 MMC 可以作为预防 CAC 发展的潜在治疗靶点。

单核-巨噬细胞产生的 IL-6 是一种多功能细胞因子,通过多条信号通路,包括 NF- $\kappa$ B 信号转导通路、STAT3 及 IL-6/STAT3 细胞因子信号转导抑制因子 3(suppressors of cytokine signaling 3, SOCS3),在 UC 癌变中发挥一定的作用<sup>[22]</sup>。肠道固有层中巨噬细胞所分泌的白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)能促使肠上皮癌变细胞逃避正常凋亡途径的激活;STAT3 维持 IL-6 表达水平,促使肠上皮癌变细胞增

殖及存活<sup>[23]</sup>;而巨噬细胞源性 IL-6 能调控结肠癌细胞中黏蛋白的表达,营造有利于肿瘤细胞扩散转移的微环境<sup>[24]</sup>。

此外,最近研究还发现中性粒细胞在 CAC 的形成过程中起着极为重要的作用<sup>[25]</sup>,中性粒细胞产生大量前炎细胞因子白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ),后者能够刺激单核-巨噬细胞分泌 IL-6,从而发挥促瘤作用。而作为固有免疫的重要组成部分,补体系统在溃疡性结肠炎癌变进程中同样有显著的促进作用,其通过调节中性粒细胞表达 IL-1 $\beta$  而促进 CAC 的发生<sup>[26]</sup>。

激活的单核-巨噬细胞还通过释放  $\alpha$ -肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )影响肿瘤生长,它作为诱导趋化因子,使中性粒细胞聚集在结肠黏膜炎症区域。在 UC 癌变过程中, TNF- $\alpha$  在结肠固有层及黏膜下的表达明显上调。TNF- $\alpha$  表达缺失能减轻肠黏膜损害及巨噬细胞的浸润程度,明显减少结肠肿瘤的数量及缩小肿瘤体积<sup>[27]</sup>。而微生物调节剂,如乳杆菌代谢产物,能抑制结肠巨噬细胞释放 IL-6 及 TNF- $\alpha$ ,减轻肠道炎症及癌变的概率<sup>[28]</sup>。这表明 IL-6 和 TNF- $\alpha$  表达增加与巨噬细胞浸润密切相关,一定程度上促进了结肠炎癌变的进程。

最新研究还显示<sup>[29]</sup>,白细胞介素-17A(interleukin-17A, IL-17A)和转录因子维甲酸相关孤儿核受体  $\gamma$ T 细胞(retinoid-related orphan nuclear receptor  $\gamma$ T cell, ROR $\gamma$ T cell)在炎症性肠病的发病机制中扮演重要角色<sup>[30]</sup>;在氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)/葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)小鼠模型研究中发现 ROR $\gamma$ T 细胞在结肠肿瘤进展过程中的重要性。在 ROR $\gamma$ Th17 淋巴细胞缺失条件下,小鼠慢性结肠炎的症状表现明显,但肿瘤结节较少。而 ROR $\gamma$ T 细胞缺失小鼠肿瘤生长延缓的现象并非是结肠肿瘤发生率的降低而造成的。进一步研究证明这种在 ROR $\gamma$  缺失的 Th17 细胞和肿瘤细胞出现增殖率降低的现象,是因为此类细胞发生了与衰老迹象明显相关的表观遗传学和溶酶体方面的变化。这也提示 ROR $\gamma$ T 细胞在小鼠结肠炎相关肿瘤发生过程中对肿瘤细胞增殖发挥了必要的作用。

白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)主要是由调节性 T 细胞和巨噬细胞等免疫细胞产生并释放,具有免疫功能和抗炎的特性,可抑制胃肠道肿瘤的发生。IL-10 的缺失会加剧结肠炎症,从而导致结肠炎和癌症。与此相一致的是, CD4<sup>+</sup> T 细胞和 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> T 细胞在小肠息肉中是 IL-10 的主要来源,而通过移植分泌 IL-10 的调节性 T 细胞到结肠炎或

遗传性息肉病小鼠模型,可预防疾病发生,并且在 T 细胞中靶向消融 IL-10,引起其分泌严重不足,观察到迟发性息肉的生长<sup>[31]</sup>。这些息肉逐渐失去细胞毒活性,最终进展为癌症。而这种结果正是由于干扰素- $\gamma$  依赖性免疫监视功能损失导致的<sup>[32]</sup>。

### 3.3 炎症肿瘤相关信号通路及相关分子在溃疡性结肠炎癌变中的影响

结肠慢性炎症与癌变的发生密切相关,其原因之一是溃疡性结肠炎所处部位炎症的慢性刺激反应通过氧化应激损伤引起细胞增殖调控相关基因的突变,导致结肠上皮细胞增殖和转运加速,进而导致炎症进展,发生异型增生和癌变<sup>[33]</sup>。非可控性炎症导致肿瘤的途径包括内源性和外源性两条,前者主要是遗传因素等使易感基因和信号通路异常,而后者主要指炎症微环境等内环境因素的影响。然而大量研究表明,与 SCC 比较, UC-CAC 的发病机制、危险因素、早期诊断及预后等方面均有其特殊性<sup>[34]</sup>。

大量临床资料显示,表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)信号在 CAC 形成中具有重要的作用。65%~70% 的大肠肿瘤高表达 EGFR, EGFR 的表达与肿瘤临床分期、淋巴结受累及范围、血管浸润转移等关系密切,提示 EGFR 信号途径和 CAC 的进展和转移有一定关系<sup>[35]</sup>。

最新研究显示, Tyro3-Axl-MERTK(TAM)受体信号通路及其配体 Gas6 和蛋白 S,是固有免疫反应的强有力负调节因子。小鼠中一系列研究表明<sup>[36]</sup>,随着凋亡细胞或 T 细胞依赖的免疫反应诱导吞噬,配体诱导 TAM 信号抑制促炎性细胞因子的产生,从而防止炎症扩散或迁延。据此可认为,在炎症性肠道疾病的发病机制中, TAM 途径可能发挥重要的作用,其抑制炎症和清除凋亡细胞的组织修复是疾病缓解和炎症性肠道疾病成功管控的关键过程<sup>[37]</sup>。

乙酰葡萄糖胺(O-GlcNAc)是一个由可逆的翻译后修饰糖基化而组成的蛋白结构。O-GlcNAc 的添加和删除分别由 O-GlcNAc 转移酶(O-GlcNAc transferase, OGT)和 O-GlcNAc 酶(O-GlcNAcase, OGA)催化<sup>[38]</sup>。最新证据表明,其对结肠炎症性疾病和肿瘤的修饰调节很重要。此外, CAC 组织与正常人结肠组织相比, O-GlcNAc 糖基化水平升高<sup>[39]</sup>。在分子生物学研究中, O-GlcNAc 水平升高显示激活 NF- $\kappa$ B 信号通路的作用增强,并通过上调  $\kappa$ RelA/p65 的表达来结合其靶启动子。这些结果表明,结肠组织中 O-GlcNAc 修饰水平的升高,可通过阻断 NF- $\kappa$  调控相关转录活性,来促进 UC-CAC 的病期进展<sup>[40]</sup>。

### 3.4 血管内皮生长因子在溃疡性结肠炎癌变中的作用

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是维持实体瘤生长和转移的重要因子,可通过多种形式影响肿瘤生长,VEGF可促进肿瘤组织内微血管形成,为肿瘤的生长提供养分<sup>[41]</sup>;也可直接刺激肿瘤细胞增殖,加速肿瘤的生长<sup>[42]</sup>,还可维持肿瘤干细胞集落,利于肿瘤干细胞生长等<sup>[43]</sup>。在CAC病程中,VEGF通过刺激结肠上皮细胞增殖,加速其恶变,促进CAC的生长。研究<sup>[44]</sup>发现,诱导病灶部位骨髓来源抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)出现和累积可能是VEGF促进肿瘤生长的又一重要机制。

VEGF很可能是CAC早期诱导MDSC累积相关重要因子之一,阻断VEGF信号显著减少MDSC的产生和聚集,从而增强抗肿瘤免疫,抑制肿瘤生长。MDSC可能通过多种机制影响机体的抗肿瘤免疫,其中精氨酸酶-1(arginase-1, Arg-1)和诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)是MDSC分泌的重要介质,Arg-1通过分解体内的精氨酸,抑制T细胞增殖,iNOS在分解精氨酸过程中可产生一氧化氮<sup>[45]</sup>。MDSC的作用机制部分是通过产生Arg-1和iNOS来抑制细胞毒性T细胞的增殖和功能,从而抑制机体的抗肿瘤免疫反应,促进肿瘤生长。

新的研究还发现,在CAC微环境中,VEGF的表达受促炎细胞因子粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)的调节。肠道微生物通过LPS/TLR4通路刺激肠上皮细胞表达GM-CSF,后者通过自分泌/旁分泌方式刺激VEGF的产生,从而促进血管新生和上皮细胞增殖<sup>[46]</sup>。综上所述,VEGF通过影响MDSC和GM-CSF的产生和累积,营造有利于CAC形成的微环境,促进CAC形成。

## 4 展 望

目前,炎症和肿瘤的关系是医学研究热点之一,UC与UC-CAC是很好的模型<sup>[47]</sup>。普遍认为,UC-CAC与SCC癌变机制的差异很大原因来自慢性炎症和氧化损伤对肿瘤形成的驱动作用。以上围绕溃疡性结肠炎癌变主题系统而卓有成效的研究,出发点与角度可能各不相同。但到目前为止,人们对于溃疡性结肠炎参与免疫反应、免疫调节的机制,尤其是相关性结肠癌发生的影响还尚未完全清楚,我们期待更深入地阐明机制,发现敏感度和特异性更高的癌前

病变标志物,能应用于临床的更有效监测筛查方法和预防治疗药物,从而降低结肠炎相关性结直肠癌的发病率,延长患者生存期,提高患者生活质量。

## [参 考 文 献]

- [1] HU R W, OUYANG Q, CHEN X, et al. Analysis of inflammatory bowel disease in the literature of China in recent fifteen years [J]. Chinese J Gastroenterol, 2007, 12(2): 74-77. DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2007.02.004.
- [2] SEIGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2013 [J]. CA Cancer J Clin, 2013, 63(1): 11-30. DOI: 10.3322/caac.21166.
- [3] YASHIRO M. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(44): 16389-16397. DOI: 10.3748/WJG.v20.i44.16389.
- [4] CHEN C H, SU B Z, YU J H, et al. Colonoscopic features and clinical analysis of ulcerative colitis( Report of 640 cases ) [J]. Inner Mongolia Medical Journal, 2006, 38(1): 202-211. DOI: 10.3969/j.issn.1004-0951.2006.01.007.
- [5] ZHAO Y J, YUAN Y Z. A clinical study on relationship between Inflammatory bowel disease and colorectal cancer [J]. Chinese J Digestive Disease, 2008, 28(12): 827-830.
- [6] ANTONIOU E, MARGONIS G, ANGELOU A, et al. Cytokine networks in animal models of colitis-associated cancer [J]. Anticancer Res, 2015, 35(1): 19-24.
- [7] DELAUNOIT T, LIMBURG P, GOLDBERG R, et al. Colorectal cancer prognosis among patients with inflammatory bowel disease [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2006, 4(3): 335-342. DOI: 10.1016/j.cgh.2005.12.035.
- [8] FRANCESCONE R, HOU V, GRIVENNIKOV S I. Cytokines, IBD, and colitis-associated cancer [J]. Inflamm Bowel Dis, 2015, 21(2): 409-418. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000236.
- [9] JESS T, LOFTUS E J R, VELAYOS F S, et al. Risk of intestinal cancer in inflammatory bowel disease: a population-based study from olmsted county, Minnesota [J]. Gastroenterology, 2006, 130(4): 1039-1046. DOI: 10.1053/j.gastro.2005.12.037.
- [10] URBANSKI S J, FOGT F. Dysplasia in chronic ulcerative colitis: A molecular approach to its differential diagnosis [J]. Int J Surg Pathol, 2000, 8(1): 11-16. DOI: 10.1177/106689690000800106.
- [11] SIPOS F, FÜRI I, CONSTANTINOVIS M, et al. Contribution of TLR signaling to the pathogenesis of colitis-associated cancer in inflammatory bowel disease [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(36): 12713-12721. DOI: 10.3748/wjg.v20.i36.12713.
- [12] RAPOZO D, GRINMANN A, CARVALHO A, et al. Analysis of mutations in TP53, APC, K-ras and DCC genes in the nondysplastic mucosa of patients with inflammatory bowel disease [J]. Int J Colorectal Dis, 2009, 24(10): 1141-1148. DOI: 10.1007/s00384-009-0748-5.
- [13] YOU J, NGUYEN A V, ALBERS C G, et al. Wnt pathway-related gene expression in inflammatory bowel disease [J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(4): 1013-1019. DOI: 10.1007/s10620-007-9973-3.
- [14] GRIVENNIKOV S I. Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia [J]. Semin Immunopathol, 2013, 35(2): 229-244. DOI: 10.1007/s00281-012-0352-6.

- [ 15 ] VAN DEKKENA H, WINKA J, VISSEERS K J, et al. Wnt pathway-related gene expression during malignant progression in ulcerative colitis [ J ]. *Acta Histochem*, 2007, 109( 4 ):266-272. DOI: 10.1016/j.acthis.2007.02.007.
- [ 16 ] VAN DER KRAAK L, GROS P, BEAUCHEMIN N. Colitis-associated colon cancer: Is it in your genes? [ J ]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21( 41 ): 11688-11699. DOI: 10.3748/WJG.v21.i41.11688.
- [ 17 ] GRIVENNIKOV S, KARIN E, TERZIC J, et al. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer [ J ]. *Cancer Cell*, 2009, 15( 2 ):103-113. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.02.003.
- [ 18 ] TRUSEVYCH E H, MACNAUGHTON W K. Proteases and their receptors as mediators of inflammation-associated colon cancer [ J ]. *Curr Pharm Des*, 2015, 21( 21 ):2983-2992. DOI: 10.2174/1381612821666150514104800.
- [ 19 ] DEML B, REIS L M, MUHEISEN S, et al. EFTUD2 deficiency in vertebrates: identification of a novel human mutation and generation of a zebrafish model [ J ]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2015, 103( 7 ): 630-640. DOI: 10.1002/bdra.23397.
- [ 20 ] ZUNDLER S, NEURATH M F. Integrating immunologic signaling networks: the JAK/STAT pathway in colitis and colitis-associated cancer [ J/OL ]. *Vaccines ( Basel )*, 2016, 4( 1 ). pii: E5[ 2016-04-01 ]. <http://www.mdpi.com/2076-393X/4/1/5/htm>. DOI: 10.3390/vaccines4010005.
- [ 21 ] RISQUES R A, LAI L A, HIMMETOGLU C, et al. Ulcerative colitis associated colorectal cancer arises in a field of short telomeres, senescence, and inflammation [ J ]. *Cancer Res*, 2011, 71( 5 ): 1669-1679. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1966.
- [ 22 ] LI Y, DE HAAR C, CHEN M, et al. Disease-related expression of the IL6/STAT3/SOCS3 signalling pathway in ulcerative colitis and ulcerative colitis-related carcinogenesis [ J ]. *Gut*, 2010, 59( 2 ): 227-235. DOI: 10.1136/gut.2009.184176.
- [ 23 ] GRIVENNIKOV S, KARIN E, TERZIC J, et al. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer [ J ]. *Cancer Cell*, 2009, 15( 2 ): 103-113. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.02.003.
- [ 24 ] XU L, YI H G, WU Z, et al. Activation of mucosal mast cells promotes inflammation-related colon cancer development through recruiting and modulating inflammatory CD11b( + )Gr1( + ) cells [ J ]. *Cancer Lett*, 2015, 364( 2 ):173-180. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.05.014.
- [ 25 ] NING C, LI Y Y, WANG Y, et al. Complement activation promotes colitis-associated carcinogenesis through activating intestinal IL-1 $\beta$ /IL-17A axis [ J ]. *Mucosal Immunol*, 2015, 8( 6 ): 1275-1284. DOI: 10.1038/mi.2015.18.
- [ 26 ] WANG Y, WANG K, HAN G C, et al. Neutrophil infiltration favors colitis-associated tumorigenesis by activating the interleukin-1 ( IL-1 )/IL-6 axis [ J ]. *Mucosal Immunol*, 2014, 7( 5 ): 1106-1115. DOI: 10.1038/mi.2013.126.
- [ 27 ] POPIVANOVA B K, KITAMURA K, WU Y, et al. Blocking TNF- $\alpha$  in mice reduce colorectal carcinogenesis associated with chronic colitis [ J ]. *J Clin Invest*, 2008, 118( 2 ):560-570. DOI: 10.1172/jci32453.
- [ 28 ] CHON H, CHOI B, LEE E, et al. Immunomodulatory effects of specific bacterial components of *Lactobacillus plantarum* KF-CC11389P on the murine macrophage cell line RAW 264.7 [ J ]. *J Appl Microbiol*, 2009, 107( 5 ): 1588-1597. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04343.x.
- [ 29 ] MARTIN M, KESSELRING R K, SAIDOU B, et al. ROR $\gamma$ ( + ) hematopoietic cells are necessary for tumor cell proliferation during colitis-associated tumorigenesis in mice [ J ]. *Eur J Immunol*, 2015, 45( 6 ):1667-1679. DOI: 10.1002/eji.201444915.
- [ 30 ] LOW D, MINO-KENUDSON M, MIZOGUCHI E. Recent advancement in understanding colitis-associated tumorigenesis [ J ]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20( 11 ): 2115-2123. DOI: 10.1097/MIB.000000000000094.
- [ 31 ] DENNIS K L, SAADALLA A, BLATNER N R, et al. T-cell expression of IL10 is essential for tumor immune surveillance in the small intestine [ J ]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3( 7 ):806-814. DOI: 10.1158/2326-6066.cir-14-0169.
- [ 32 ] NAGANUMA M, HOSOE N, OGATA H. Inflammatory bowel disease and novel endoscopic technologies [ J ]. *Dig Endosc*, 2014, 26( Suppl 1 ):20-28. DOI: 10.1111/den.12161.
- [ 33 ] PARANG B, BARRETT C W, WILLIAMS C S. AOM/DSS model of colitis-associated cancer [ J ]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1422: 297-307. DOI: 10.1007/978-1-4939-3603-8\_26.
- [ 34 ] ULLMAN T A, ITZKOWITZ S H. Intestinal inflammation and cancer [ J ]. *Gastroenterology*, 2011, 140( 6 ): 1807-1816. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.057.
- [ 35 ] CHEN N. The progress of the inhibitor of VEGF in treatment of CAC [ J ]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 18( 12 ):1069-1071.
- [ 36 ] ROTHLIN C V, LEIGHTON J A, GHOSH S. TYRO3, Axl, and Merck receptor signaling in inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer [ J ]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20( 8 ):1472-1480. DOI: 10.1097/mib.0000000000000050.
- [ 37 ] DANESE S, MALESCI A, VETRANO S. Colitis-associated cancer: the dark side of inflammatory bowel disease [ J ]. *Gut*, 2011, 60( 12 ):1609-1610. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300953.
- [ 38 ] MI W, GU Y, HAN C, et al. O-GlcNAcylation is a novel regulator of lung and colon cancer malignancy [ J ]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1812( 4 ): 514-519. DOI: 10.1016/j.bbadis.2011.01.009.
- [ 39 ] YANG Y R, KIM D H, SEO Y, et al. Elevated O-GlcNAcylation promotes colonic inflammation and tumorigenesis by modulating NF- $\kappa$ B signaling [ J ]. *Oncotarget*, 2015, 6( 14 ):12529-12542. DOI: 10.18632/oncotarget.3725.
- [ 40 ] CHEN G, HAN G, SHEN B, et al. GM-CSF facilitates the development of inflammation-associated colorectal carcinoma [ J/OL ]. *Oncoimmunology*, 2014, 3: e28186[ 2016-04-01 ]. <http://www.landesbioscience.com/journals/oncoimmunology/article/28186>. DOI: 10.4161/inci.28186.
- [ 41 ] CARMELIET P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer [ J ]. *Oncology*, 2005, 69( Suppl 3 ): 4-10. DOI: 10.1159/000088478.
- [ 42 ] RAPISARDA A, MELILLO G. Role of the VEGF/VEGFR axis in cancer biology and therapy [ J ]. *Adv Cancer Res*, 2012, 114: 237-267. DOI: 10.1016/b978-0-12-386503-8.00006-5.
- [ 43 ] BECK B, DRIESSENS G, GOOSSENS S, et al. A vascular niche and a VEGF-Nrp1 loop regulate the initiation and stemness of skin

- tumours [ J ]. Nature, 2011, 478( 7369 ): 399-403. DOI:10.1038/nature10525.
- [ 44 ] WANG Y, HAN G, WANG K, et al. Tumor-derived GM-CSF promotes inflammatory colon carcinogenesis via stimulating epithelial release of VEGF [ J ]. Cancer Res, 2014, 74( 3 ): 716-726. DOI: 10.1158/0008-5472.can-13-1459.
- [ 45 ] GABRILOVICH D I, NAGARAJ S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system [ J ]. Nat Rev Immunol, 2009, 9( 3 ): 162-174. DOI:10.1038/nri2506.
- [ 46 ] WANG K, HAN G, DOU Y, et al. Opposite roles of tumor necrosis factor receptors in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice [ J/OL ]. PLoS One, 2012, 7( 12 ): e52924[ 2016-04-01 ]. http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0052924. DOI:10.1371/journal.pone.0052924.
- [ 47 ] ZHOU Q, PENG R Q, WU X J, et al. The density of macrophages in the invasive front is inversely correlated to liver metastasis in colon cancer [ J/OL ]. J Transl Med, 2010, 8( 8 ): 13. http://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-5876-8-13. DOI:10.1186/1479-5876-8-13.
- [ 收稿日期 ] 2016-05-15 [ 修回日期 ] 2016-10-12
- [ 本文编辑 ] 宋关鸿

## · 科技动态 ·

## 卵巢肿瘤结构域特异性去线性泛素化酶负向调控炎症和自身免疫

线性泛素化在调节免疫系统中发挥着重要作用,可以通过调节核因子  $\kappa$ B( nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)调节免疫反应。线性泛素化链由线性泛素链组装复合体( linear ubiquitin chain assembly complex, LUBAC)合成,这个复合体包括氧化血红素 IRP2 泛素连接酶 1( heme-oxidized IRP2 ubiquitin ligase-1, HOIL-1)、HOIL-1 相互作用蛋白( HOIL-1 interacting protein, HOIP)和 SHANK 蛋白 RH( RBCK1 homology, RH)结构域相互作用蛋白( SHANK-associated RH domain interacting protein, SHARPIN)。卵巢肿瘤( ovarian tumor, OTU)结构域线性链接特异性去泛素化酶( OUT domain deubiquitinase with linear linkage specificity, OTULIN/Gumby/FAM105B)是唯一已知的特异性去线性泛素化的去泛素化酶,能够直接结合 LUBAC 的组分 HOIP。

首先,作者发现人 *OTULIN* 基因突变会导致反复发作的全身性炎症并伴有腹泻和血清 C 反应蛋白、白细胞数和中性粒细胞数升高,继续发展为反复发作的结节性脂膜炎,同时伴有中性粒细胞浸润和反复发热。患者表现为生长迟缓、关节肿痛以及血清中免疫球蛋白水平和自身抗体增多,作者将这种自发性炎症命名为 *OTULIN* 相关自身炎症( *OTULIN*-related autoinflammatory syndrome, ORAS)。作者发现用抗肿瘤坏死因子( tumor necrosis factor, TNF)抗体英利昔单抗治疗 ORAS 效果明显,这说明是 TNF 介导了发病。进一步研究发现突变的 *OTULIN* 降解线性泛素化链的活性比野生型低 1 000 ~ 10 000 倍,而 ORAS 患者的血样中线性泛素化链的量明显增加,因此作者得出结论,*OTULIN* 功能缺失导致线性泛素化链水平增加可能通过 TNF 引起患者的炎症和自身免疫。

然后,作者希望建立一个 ORAS 小鼠模型来探索 *OTULIN* 缺陷如何导致炎症和自身免疫。作者用他莫昔芬处理的 Cre-ERT2-*Otulin* 骨髓嵌合小鼠诱导骨髓细胞 *OTULIN* 基因缺失后小鼠体重显著下降,血液中白细胞显著增多,血清中 TNF、白介素 6( interleukin-6, IL-6)和粒细胞集落刺激因子( granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)等细胞因子显著地升高,多组织中性粒细胞浸润。另外,小鼠的这种 ORAS 样的症状能够被抗体治疗逆转,说明这种 *OTULIN* 缺陷小鼠为探索 ORAS 机制提供了良好的模型。

接着,为了剖析 *OTULIN* 缺陷产生症状的免疫机制,作者建立了在免疫细胞系中组成性敲除 *OTULIN* 基因的小鼠模型。T 细胞或 B 细胞缺失 *OTULIN* 的小鼠体内没有明显的炎症,而骨髓细胞中 *OTULIN* 缺陷则会导致很严重的炎症。3 到 9 个月大的骨髓细胞 *OTULIN* 缺陷的小鼠有明显的肝脾肿大,白细胞增多以及外周中性白细胞、淋巴细胞和单核细胞数量升高,血液中 TNF、IL-6 和 G-CSF 等炎性细胞因子明显升高,T 细胞激活和适应性免疫相关的细胞因子如 IL-2、IL-4、 $\gamma$  干扰素等升高。总之,作者发现骨髓细胞 *OTULIN* 缺陷小鼠的全身性的炎症包含了天然免疫和适应性免疫的参与。

最后,作者通过骨髓来源的巨噬细胞( bone marrow derived macrophage, BMDM)探索导致这种严重炎症的分子机制。作者发现在 *OTULIN* 缺陷的 BMDM 中线性泛素化水平显著升高,在没有外源刺激的情况下 P65 磷酸化增加,细胞分泌的 TNF 和 IL6 也增加,说明 *OTULIN* 在此通路中作为负向调节因子。作者进一步研究发现 LUBAC 组分 SHARPIN 水平略减少,这些数据说明 *OTULIN* 缺陷的巨噬细胞不能控制 LUBAC 介导的线性泛素化产生,从而导致 NF- $\kappa$ B 激活和无菌性炎症。

总之,本文作者通过研究发现特异性的去线性泛素化酶 *OTULIN* 在人体和小鼠体内可以抑制 TNF 相关的全身性炎症,是调节免疫稳态、炎症和自身免疫的关键分子。

- [ 李天亮 摘译,韩超峰 审阅. DAMGAARD R B, WALKER J A, MARCO-CASANOVA P, et al. The deubiquitinase OTULIN is an essential negative regulator of inflammation and autoimmunity [ J ]. Cell, 2016, 166( 5 ): 1215-1230. e20. DOI: 10.1016/j.cell.2016.07.019. Epub 2016 Aug 11. ]