

- hibition of bacterial adhesion to a solid surface by sub-MICs of antibiotics and subsequent development of a biofilm[J]. Res Microbiol, 2005, 156(5-6): 650-655.
- [2] Stoodley H, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the Natural environment to infectious diseases[J]. Nat Rev Microbiol, 2004, 2(2): 95-108.
- [3] Chen X, Stewart PS. Biofilm removal caused by chemical treatments [J]. Water Research, 2000, 34 (17): 4229-4233.
- [4] 陈秋云, 韩北忠, 李春雷. 金黄色葡萄球菌生物被膜在不锈钢表面的形成及其对二氧化氯的敏感性[J]. 中国农业大学学报, 2004, 9(4): 10-13.
- [5] Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation [J]. J Microbiol Methods, 2000, 40(2): 175-179.
- [6] Dickschat JS. Quorum sensing and bacterial biofilms [J]. Nat Prod Rep, 2010, 27(3): 343-369.
- [7] Harvey J, Ketenen KP, Gilmour A. Assessing biofilm formation by *Listeria monocytogenes* strains[J]. Food Microbiol, 2007, 24(4): 380-392.
- [8] Bremer PJ, Fillery S, McQuillan AJ. Laboratory scale Clean-In-Place (CIP) studies on the effectiveness of different caustic and acid wash steps on the removal of dairy biofilms [J]. Int J Food Microbiol, 2006, 106(3): 254-262.
- [9] Kuchma SL, O'Toole GA. Surface-induced and biofilm-induced changes in gene expression[J]. Curr Opin Biotechnol, 2000, 11: 429-433.
- [10] Donalan RM. Biofilms, microbial life on surfaces [J]. Emerg Infect Dis, 2002, 8(9): 881-890.
- [11] Yao Y, Sturdevant DE, Otto M. Genomewide analysis of gene expression in *Staphylococcus* of *S. epidermidis* biofilms and the role of phenol-soluble modulins in formation of biofilm[J]. J Infect Dis, 2005, 191(2): 289-298.
- [12] Moons P, Michiels CW, Aertsen A. Bacterial interactions in biofilms [J]. Crit Rev Microbiol, 2009, 35(3): 157-168.
- [13] Estrela AB, Heck MG, Abraham WR. Novel approaches to control biofilm infections [J]. Curr Med Chem, 2009, 16(12): 1512-1530.
- [14] Aparna MS, Yadav S. Biofilms: microbes and disease [J]. Braz J Infect Dis, 2008, 12(6): 526-530.
- [15] Pitts B, Hamilton MA, Zelter N. A microtiter-plate screening method for biofilm disinfection and removal [J]. J Microbiol Methods, 2003, 54(2): 269-276.
- [16] 段韵涵, 韩北忠, 杨葆华. 培养条件对金黄色葡萄球菌生物被膜生长的影响[J]. 中国酿造, 2008, (3): 17-20.
- [17] McBain AJ. Chapter 4: In vitro biofilm models: an overview [J]. Adv Appl Microbiol, 2009, 69: 99-132.
- [18] Monds RD, O'Toole GA. The developmental model of microbial biofilms: ten years of a paradigm up for review [J]. Trends Microbiol, 2009, 17(2): 73-87.
- [19] Jakubovics NS. Talk of the town: interspecies communication in oral biofilms[J]. Mol Oral Microbiol, 2010, 25(1): 4-14.
- [20] Raaijmakers JM, de Bruijn I, Nybroe O, et al. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*; more than surfactants and antibiotics [J]. FEMS Microbiol Rev, 2010, 23: 280-287.
- [21] Pittet D, Vaudaux P, Sax H, et al. Foreign body infections due to *Staphylococcus epidermidis* [J]. Ann Med, 2009, 41(2): 109-119.
- [22] 屈常林, 高洪, 赵宝洪, 等. 细菌生物被膜与抗生素耐药机制研究进展[J]. 动物医学进展, 2008, 29(3): 251-254.
- [23] Kaplan JB. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses [J]. J Dent Res, 2010, 89(3): 205-218.

(收稿日期: 2010-07-13)

肝干细胞研究进展

张瑞林, 赵昌芹 综述, 刘 备 审校(第三军医大学学员旅十一队, 重庆 400038)

【关键词】 肝干细胞; 肝; 免疫耐受

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2010. 23. 061

中图分类号: R657. 3

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)23-2661-04

当前原位肝移植是治疗终末期肝病的最有效的措施, 但肝源严重短缺, 导致许多患者未能获得肝移植以及其费用昂贵、移植排斥反应及长期应用免疫抑制剂引起并发症等成为限制其广泛应用的主要原因。肝干细胞是一类具有自我更新与增殖分化能力的细胞, 能产生表现型与基因型和自己完全相同的子细胞, 同时还能分化为肝祖细胞, 并在动物实验和临床研究中均取得了显著进展。为众多急慢性肝损伤、肝代谢性疾病的患者带来了新的希望。同时, 也应清醒的认识到, 从肝干细胞基础研究到广泛临床应用仍有诸多问题需要认识和解决。现

就肝干细胞的研究进展作一综述。

1 来源与分布

肝源性肝干细胞包括胎肝干细胞、肝卵圆细胞(hepatic oval cell, HOC)。Suzuki 等^[1]采用荧光激活细胞分类法从小鼠胎肝中分离到一种增殖能力很强的细胞, 体外培养可形成较大的集落, 体外存活时间也大为延长, 提示小鼠胎肝中存在高增殖潜能的肝干细胞。Malhi 等^[2]从人胎肝中分离出一种上皮祖/干细胞, 它具有很强的集落形成能力。在培养条件下可增生数月, 且细胞分裂 40 次以上后仍能保持正常核型, 在联合免

疫缺陷小鼠体内可分化为成熟肝细胞。HOC 是一类胞体小、核大胞质少、呈卵圆形浅染的一类细胞。目前对于人肝脏中与啮齿类动物卵圆细胞相似的这群细胞建议命名为肝脏祖细胞 (hepatic progenitor cells, HPCs)。

肝干细胞的确切来源尚有争议, 通常认为肝干细胞源于内胚层组织, 有证据证明在肝脏发育的早期在造血组织内存在肝干细胞。通过流式细胞检测分析显示在肝脏发育早期, 大约有 13% 的 CD45⁺ 细胞表达 Δ 样蛋白-1, 这是肝干细胞标记物之一^[3]。现在大多数研究者认为 HPCs 定居于终末小胆管 (Hering 管) 中, 因为那是一个比较特殊的解剖位置, 即位于肝小叶边缘, 连接胆小管和小叶间胆管。门脉周围放射状排列的胆管型小细胞就是构成 Hering 管的胆管细胞, 这些细胞通常能越过肝板进入到邻近的肝小叶内。三维结构分析表明, 坏死后的胆小管反应沿着 Hering 管分布, 同时有证据表明, HPCs 存在于胆管板 (在胎儿肝脏), 胎儿和新生儿肝脏的胆管板过渡到儿童和成人肝脏的终末胆小管的过程已观测到。因此, 终末胆小管被认为是胆管板在成人的残余物, 它具有双向分化的潜能。由此表明 HPCs 存在于 Hering 管^[4]。

2 肝干/祖细胞的分离和提取

胎肝作为肝再生的细胞来源的一大优势是没有选择压力仍可增殖、保持双向分化的能力^[5-8], 运用流式荧光活化细胞培养 (FACS) 技术, Herrer 等^[9] 从健康成人肝脏分离并鉴定了肝祖细胞。运用免疫组化方法发现肝干细胞高度表达的有甲胎蛋白、清蛋白 (Alb)、OV6 (O-val cell marker 6)、SCF/c-kit、细胞角质素 (cytokeratin, CK) 包括 CK7、CK8、CK18 及 CK19 等, 但特异性不高, 有待进一步研究。采用 Thy-1 阳性选择, HPCs 也可分离获得, Thy-1 阳性细胞拥有祖细胞 (CD34、c-kit、CK14、M2PK、OV6)、胆管细胞 (CK19) 和肝细胞 (HepPar1) 的标记物。在 Thy-1 阳性细胞移植到免疫缺陷小鼠体内后, 大部分移植细胞在肝小叶门静脉周围可以检测到, 通过分析发现移植细胞表达人肝细胞标记物 HepPar1、清蛋白^[10]。Thy-1 (CD90) 证实人肝母细胞瘤也有表达^[11]。这种表面抗原对从人胎肝分离祖细胞意义重大^[12]。

Kumashiro 等^[13] 为获得可供体内移植用的胚胎干细胞源性肝细胞, 采用密度梯度离心法、免疫磁珠分选法和流式细胞仪分选法进行纯化细胞, 效果较好, 为体内移植打下了基础。Sandu 等通过实验进一步比较了胚胎第 14 天胎儿肝上皮祖 (fetal liver epithelial progenitor, FLEP) 细胞和成熟肝细胞的优缺点。得出: (1) FLEP 细胞在移植 6 个月后仍能继续增殖, 而成熟肝细胞在移植后第 1 个月就停止增殖; (2) FLEP 细胞增殖的细胞群无论从数量上还是大小上都持续升高, 而成熟肝细胞却逐渐缩小; (3) FLEP 细胞能够分化成肝细胞和胆管细胞而成熟肝细胞只能增殖分裂成肝细胞^[14]。因此 FLEP 细胞移植是目前很有发展前景的项目。

3 肝干/祖细胞的分化

肝细胞核因子 4 (Hepatocyte nuclear factor-4, HNF-4) 在肝细胞分化中起到重要作用^[15]。HPCs 14 d 的胎肝获得, 用细胞分选系统分离。研究者用腺病毒介导的 HNF-4 转染目标细胞, 用逆转录多聚酶链反应和 northern 印迹分析肝特异标志物, HNF-4 过表达肝祖细胞被注入受体小鼠, 其用二甲亚硝胺处理并行 30% 的肝部分切除术。在移植后 5 d, 移植物的中央细胞清蛋白染色阳性, 但是周围细胞细胞角蛋白 19 的片

段染色也是阳性。腺病毒介导的 HNF-4 转染, 促进了 HNF-4、ApoA1、ApoC3^[16]、孕烷 X 受体信使 RNA 的表达。接受了 HNF-4 过表达 HPCs 的小鼠, 对比对照组, 存活率明显提高。而且该组的小鼠血清清蛋白、糖、总胆固醇也要高些。

4 肝干/祖细胞的激活

在成人 HPCs 是增殖率较低的静止干细胞。在肝脏损伤, 如肝部分切除术和胆管套扎术后, 干细胞和小叶间胆管细胞表现出了高的增殖率, 与肝脏的修复和胆管数量的增加高度相关。因此, 肝祖细胞是一个储备区, 只有在肝脏的成熟上皮细胞持续遭到破坏和复制被抑制或者出现严重的细胞凋亡时才激活。之后从门静脉周围区扩增到中央区, 并分化为肝细胞和胆管细胞。

急性和慢性肝脏损伤模型中 HPC 的激活模式是不同的。大剂量的致癌物 AAF 使用可导致急性反应, 包括干祖细胞大量的增殖, 其能深入到肝小叶但大多数却未分化; 低剂量的 AAF 诱导慢性肝损伤和低强度 HPC 区的激活。祖细胞区域发生显著增殖出现在肝细胞急性大量坏死后的再生中。相似的, 显著的 HPCs 激活在大多数慢性人类肝病里都有描述^[17]。在 HPCs 活化中肝祖细胞微环境起了支持和促进作用, 其成分包括肝门肌成纤维细胞 (MF)、肝星型细胞 (HSCs)、炎症反应细胞等。炎症反应细胞产生大量细胞因子和化学因子影响 HPC 对肝损伤的反应。星形细胞 HSCs 是生长因子, 转化生长因子, 酸性成纤维细胞生长因子的主要来源。两类细胞可相互作用^[4]。此外损伤因素作用于肝脏后导致肝细胞和胆管细胞发生损害后所释放物质, 主要包括乙醛、乳酸、花生四烯酸、活性氧中间产物和反应性氮中间产物等都对 HPCs 的激活和分化产生一定的作用。而干扰素 α 体外实验显示干扰素 α 刺激的肝细胞和胆囊上皮细胞分化, 通过清蛋白和 IL-19 表达增多, 同时伴有甲胎蛋白和 Thy-1 表达下调而反映出来。体内试验中给予小鼠低胆碱和高乙硫氨酸饮食, 以引发其肝损伤和卵圆细胞增殖, 然后应用干扰素 α -2b 治疗 2 周。结果显示, 治疗后小鼠的卵圆细胞数量与治疗前相比减少 4 倍 ($P < 0.05$)。因此干扰素 α 可明显降低慢性肝损伤中 c-kit 阳性的肝祖细胞数量, 在预防肝祖细胞肿瘤前变化有一定作用^[18]。

5 肝干/祖细胞运用

近来 Oertel 等^[19] 进行移植 (14 d) 肝肝干细胞实验, 连续增殖 6 月后, 发现这些细胞分化为成熟肝细胞和胆管细胞, 并占据了 23.5% 肝质量。而且干细胞系还参与了 Alb-uPA/SCID 转基因鼠的肝再生, 达到了原组织的 5%, 且没有发现细胞融合现象。

杜智等^[20] 采同某系大鼠来源的肝干细胞经肝脏移植用到用 D-氨基半乳糖处理同系大鼠, 制备的暴发性肝衰竭模型里, 结果表明肝干细胞移植组大鼠一般情况改善, 中位生存时间延长, 血氨、总胆红素及谷丙转氨酶等指标明显低于对照组; 肝脏病理改变减轻, 可见核/质比例较大的小细胞增殖。在采用部分肝切除的肝损伤动物模型里用一种能够抑制肝实质细胞分裂的吡咯双烷类物质倒千里光碱处理, 一类称为“小肝细胞样祖细胞”的细胞群在 14 d 后占据肝实质 50%, 并且具有与胎肝细胞、成熟肝实质细胞和卵圆细胞有共同标志物; 短期培养后鉴定并收集这些特定细胞, 然后移植入同系大鼠肝脏, 他们发现, 这些细胞能增殖, 而且确实植入了受体肝脏的肝板中。一旦植入, 这些细胞开始增殖分化为成熟肝实质细胞^[21]。

Touraine^[22]充分利用年轻胎儿的免疫耐受将供体子宫里的胚胎肝移植到受体胎儿,除了 2 例因各种原因导致流产外,其余 4 例相当成功,恢复了受体的免疫功能,部分纠正了 β -地中海贫血。细胞移植的优点是显而易见的。(1)由于宿主免疫不成熟而导致耐受;(2)受体子宫里的胎儿容易分离;(3)宿主胎儿细胞和生长因子能提供供体胚胎发育优良的环境;(4)不成熟的供者不会对宿主造成疾病。

利用肝干/祖细胞的强增殖能力,采用细胞移植来修复与治疗受损或病变的组织 and 器官。肝细胞移植是治疗暴发性肝衰竭与遗传性肝病的有效治疗手段,已经有数名患者为恢复肝功能而接受了这种细胞移植^[23-24]。

6 肝干细胞应用存在的问题

干细胞能够自我增殖和定向分化,不仅可以成为肝衰竭患者度过危险期、等待肝源进行肝移植的一个过渡方法,又能直接修复损伤肝脏,作为细胞疗法应用于临床治疗肝衰竭、各种终末期肝病。而且干细胞治疗可能还是需要与其他有效的治疗措施结合起来,因为单纯细胞输注可能不会完全改善肝脏结构的变性损害,例如肝脏的硬化。

然而,肝干细胞的应用还存在许多问题,哪种肝干细胞是移植的最佳选择?肝干细胞的获得效率、最适宜的移植途径、移植数量和时机?移植后定位追踪目前最常用的体内移植细胞示踪剂多为荧光物质(如 GFP 报告基因、CFDA-SE 等),也有报道将携带 Y 染色体的肝干细胞移植到带雌性动物肝内,通过 Y 染色体追踪移植物的方法^[25]。陈曦等^[26]采用 Molecular Probes 公司生产的示踪剂 CM-DiI 荧光标记鼠供体骨髓干细胞经尾静脉注入受体鼠,定期肝切片荧光显微镜下观察,CM-DiI 标记的骨髓干细胞呈红色荧光,CM-DiI 标记率为 99.9%。随着分子影像学(molecular imaging)的发展,MRI 活体移植细胞示踪技术逐渐应用。应用特异性对比剂标记供体移植细胞并行受体检石药共振检测,是活体观察移植细胞存活和分布的不错方法^[27-29],但此法操作复杂,需要检石药共振设备和专业设备,费用昂贵,难以普及。肝内微环境相互作用的具体机制即体内分化、致瘤性。如一些类固醇激素(雌激素、孕酮),胰岛素样生长因子(IGF1),血管内皮生长因子(VEGF),乙酰胆碱在一些研究中被证明在肝损伤中对胆管细胞的增殖有调节作用,但作用机制仍不明。虽然 HPCs 表达几种标记物,但从人类分离肝祖细胞仍是较困难的,而且没发现完全特异的标记物或者发现的又不是表面蛋白。

因此认为动物实验应先做,用以寻找最佳移植细胞,评估其动员、归巢、植入途径及增殖能力,或者他们分化子代后从功能上替代凋亡的肝细胞的能力。临床上运用肝干细胞/祖细胞/分化的子代细胞应预先设计,也需要有为了标准化过程而制定的标准化治疗方案的发展。如细分移植细胞种类、患者、病程和辅助治疗等。

7 结 语

目前肝干细胞研究已取得巨大进展。肝干细胞对肝病患者的治疗效果令人关注,但若解决哪种肝干细胞是移植的最佳选择;肝干细胞的获得效率、最适宜的移植途径、移植数量和时机,移植后定位跟踪及和肝内微环境相互作用的具体机制即体内分化、致瘤性等问题,那在不久的将来,在临床中治疗肝病时,肝干细胞移植将会是一个很好的选择。

参考文献

- [1] Suzuki A, Zheng YW, Fukao K, et al. Clonal expansion of hepatic stem/progenitor cells following flow cytometric cell sorting[J]. Cell Transplant, 2001, 10(4-5):393-396.
- [2] Malhi H, Irani AN, Gagan DS, et al. Isolation of human progenitor liver epithelial cells with extensive replication capacity and differentiation into mature hepatocytes[J]. Cell Sci, 2002, 115(13):2679-2688.
- [3] Khurana S, Mukhopadhyay A. Hematopoietic Progenitors from early murine fetal liver possess hepatic differentiation potential[J]. AJP, 2008, 173(6):1819-1827.
- [4] Gaudio E, Carpino G, Cardinale V. New insights into liver stem cells[J]. Digestive Liver Dis, 2009, 41:455-462.
- [5] Sandhu JS, Petkov PM, Dabeva MD, et al. Stem cell properties and repopulation of the rat liver by fetal liver epithelial progenitor cells[J]. Am J Pathol, 2001, 159:1323-1334.
- [6] Strick-Marchand H, Morosan S, Charneau P, et al. Bipotential mouse embryonic liver stem cell lines contribute to liver regeneration and differentiate as bile ducts and hepatocytes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101:8360-8365.
- [7] Suzuki A, Zheng YW, Kaneko S, et al. Clonal identification and characterization of self-renewing pluripotent stem cells in the developing liver[J]. J Cell Biol, 2002, 156:173-184.
- [8] Dan YY, Riehle KJ, Lazaro C, et al. Isolation of multipotent progenitor cells from human fetal liver capable of differentiating into liver and mesenchymal lineages[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103:9912-9917.
- [9] Herrero A, Bruno S, Buttiglieri S, et al. Isolation and characterization of a stem cell population from adult human liver[J]. Stem Cells, 2006, 24:2840-2850.
- [10] Weiss TS, Lichtenauer M. Hepatic progenitor cells from adult human livers for cell transplantation[J]. Gut, 2008, 57:1129-1138.
- [11] Fiegel HC, Gluer S, Roth B, et al. Stem-like cells in human hepatoblastoma[J]. Histochem Cytochem, 2004, 52:1495-1501.
- [12] Masson NM, Currie IS, Terrace JD, et al. Hepatic progenitor cells in human fetal liver express the oval cell marker Thy-1[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2006, 291:45-54.
- [13] Kumashiro Y, Teramoto K, Shimizu-Saito K, et al. Generation of hepatocyte-like cells from mouse embryoid body cells[J]. Transplant Proc, 2005, 37(1):299-300.
- [14] Sandhu JS, Petkov PM, Dabeva MD, et al. Stem cell properties and repopulation of the rat liver by fetal liver epithelial progenitor cells[J]. Am J Pathol, 2001, 159(4):1323-1334.
- [15] Suetsugu A, Nagaki M, Aoki H, et al. Differentiation of

mouse hepatic progenitor cells induced by hepatocyte nuclear factor-4 and cell transplantation in mice with liver fibrosis[J]. Transplantation, 2008, 86(9): 1178-1186.

[16] Sladek FM, Zhong WM, Lai E, et al. Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily[J]. Genes Dev, 1990, 4: 2353.

[17] Roskams TA, Libbrecht L, Desmet VJ. Progenitor cells in diseased human liver[J]. Semin Liver Dis, 2003, 23: 385-396.

[18] Lim R, Knight B, Patel K, et al. Antiproliferative effects of interferon alpha on hepatic cells in vitro and in vivo [J]. Hepatology, 2006, 43(5): 1074-1083.

[19] Oertel M, Menthen A, Dabeva M, et al. Cell competition leads to a high level of normal liver reconstitution by transplanted fetal liver stem/progenitor cells[J]. Gastroenterology, 2006, 130: 507-520.

[20] 杜智, 张金卷, 李涛. 人胎儿肝干细胞异种移植治疗小鼠暴发性增殖分化肝细胞及胆管细胞等替代坏死肝组织的肝功能衰竭[J]. 天津医药, 2006, 34(3): 173-175.

[21] Gordon GJ, Butz GM, Grisham JW, et al. Isolation, short-term culture, and transplantation of small hepatocyte-like progenitor cells from retrorsine-exposed rats[J]. Transplantation, 2002, 73: 1236-1243.

[22] Touraine JL. In utero transplantation of fetal liver stem cells into human fetuses[J]. J Hematother, 1996, 5(2): 195-199.

[23] Strom SC, Chowdhury JR, Fox U. Hepatocyte transplantation for the treatment of human disease[J]. Semin Liver Dis, 1999, 19(1): 39-48.

[24] Ohashi K, Park F, Kay MA. Hepatocyte transplantation: clinic and experimental application[J]. Mol Med, 2001, 7(11): 617-630.

[25] 王先宝, 蔡德鸿, 张桦, 等. 磁标记猪骨髓充质干细胞肝脏移植示踪研究[J]. 广东医学, 2009, 30(3): 336-338.

[26] 陈曦, 王楚怀, 丰岩清, 等. 以 CM-DiI 作为骨髓干细胞移植示踪剂的可行性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(19): 3611-3615.

[27] Lee IH, Bulte JW, Schweinhart P, et al. In vivo magnetic resonance tracking of olfactory ensheathing glia grafted into the rat spinal cord[J]. Exp Neurol, 2004, 187(2): 509-516.

[28] Daldrop Link HE, Rudelius M, Piontek G, et al. Migration of iron oxide2labeled human hematopoietic progenitor cells in a mouse model; in vivo monitoring with 1.5T MR imaging equipment[J]. Radiology, 2005, 234(1): 197-205.

[29] 王平, 王建华, 颜志平, 等. 超顺磁性氧化铁标记大鼠骨髓基质细胞经门静脉移植 MRI 活体示踪的研究[J]. 中华放射学杂志, 2006, 40(2): 133-136.

(收稿日期: 2010-06-23)

ASC 甲基化在癌症及炎症反应中的研究进展

薛晓婕, 汪宏良(湖北省黄石市中心医院医学检验科 435001)

【关键词】 细胞凋亡相关斑点样蛋白; 凋亡; 肿瘤; 甲基化

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.23.062

中图分类号: R73.34 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2010)23-2664-02

含有胱天蛋白酶募集结构域(caspase recruitment domain, CARD)的细胞凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated specklike protein containing a CARD, ASC)是1999年由日本衰老研究中心的Masumoto和Conway在研究白血病和乳腺癌时分离鉴定的一个与细胞凋亡有关的抑癌基因^[1]。ASC基因属于CED4/Apaf1基因家族,位于染色体16p11.2~12.1,此蛋白分子包含195个氨基酸残基,它的N末端含有热蛋白样结构域(Pyrin domain, PYD);而从C末端开始的将近一半区域则被称为胱天蛋白酶募集域,它是很多参与凋亡信号转导蛋白的特征性结构。CARD和PYD都是具有六螺旋的死亡结构域超家族成员,ASC调节凋亡与炎症反应信号途径中信号传递复合物的形成,是甲基化诱导沉默子1的靶向物(target of methylation-induced silencing 1, TMSI),因此ASC基因也称为TMSI。TMSI/ASC基因可在许多正常组织中表现,如结肠、甲状腺、脾、小肠、肺、中性粒细胞、单核细胞、上皮细胞(皮肤鳞状上皮细胞、肾小管上皮细胞、结肠腺上皮细胞)。在乳腺组织中TMSI/ASC基因在乳管分泌上皮细胞中表达。但在肌上皮

细胞和基质细胞中不表达;在外周血淋巴细胞、扁桃体、淋巴结中TMSI/ASC基因表达阴性。

1 DNA 甲基化与 ASC 的关系

1.1 DNA 甲基化的介绍 在哺乳动物基因组中,胞嘧啶的第5位碳原子可以被胞嘧啶、DNA甲基化是一种基因外(epigenetic)修饰,它不改变DNA的一级结构并且在细胞正常发育、基因表达模式以及基因组的稳定性中起着至关重要的作用。DNA甲基化模式是动态的,例如在早期发育阶段,受精后发育的特征是在全基因组范围内发生去甲基化,接下来又发生区域性的甲基化,这种基因组范围的DNA甲基化改变使甲基化模式得以建立。甲基化模式的混乱与异常发育有关,包括癌症。DNA甲基化的改变,与遗传因素改变一样都是人类肿瘤的特点之一。

在肿瘤中,可以发现参与DNA修复的基因经常由于启动子区高甲基化而失活。第一个在前列腺癌中被证明的此类基因是谷胱甘肽转移酶(GsTn),实验证明甲基异常发生在大多数前列腺癌中,并且还是导致该基因失活的原因。同时也在乳