

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, Menthena 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, Schweinhardt 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] Daldrup Link HE, Rudelius M, Piontek G, et al. Migration of iron oxide<sup>2</sup>labeled human hematopoietic progenitor cells in a mouse model; in vivo monitoring with 1.5 T 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<sup>[1]</sup>。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、扁桃体和淋巴结中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

腺癌和肾癌中发现这一基因被甲基化,但在其他的肿瘤中很少发现这一现象<sup>[2]</sup>。

第二个具有肿瘤特异性甲基化的 DNA 修复基因是甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶(MGMT)。近来的研究证明存在于该基因启动子区或第一外显子内的 CpG 岛甲基化与其转录失活有关,而且这种变化可以使染色质进入关闭状态,进而导致核小体定位异常。该变化不仅存在于细胞系中,也发生在原位癌中。MGMT 基因的甲基化异常多见于结直肠癌、部分淋巴瘤、肺癌以及脑肿瘤。

最后一个 DNA 修复基因是 MLH1。许多工作发现存在于散发性结直肠癌、子宫内膜癌和胃癌中的微卫星不稳定性经常是该基因被甲基化后造成。

除上述基因外,还发现其他一些基因,如细胞因子信号抑制子(SOCS1)、骨形成蛋白(BMP3B)、RAS 效应同源物(RAssF1)、E-钙黏素、胆固醇受体、雌激素受体、雄激素受体、维甲酸受体、FHIT 等基因在不同肿瘤中存在着甲基化现象<sup>[3]</sup>。

**1.2 ASC 与甲基化** ASC 作为一种衔接蛋白,把不同的 PAAD 家族蛋白质和核因子(NF- $\kappa$ B)途径及胱天蛋白酶-1 前体激活作用连接在一起,在细胞凋亡、炎症反应胱天蛋白酶和 NF- $\kappa$ B 调节的激活中发挥作用。TMSI/ASC 在多种组织中表达,对维持细胞分化状态有重要作用,并与细胞凋亡的增殖/分化信号有关,当其表达缺失时组织易发生癌变。ASC/TMSI 的 5'端富含 CpG 岛,而 CpG 岛是 DNA 中发生甲基化频率高的区域。在正常细胞中多数 CpG 岛没有甲基化,而在人癌细胞中 CpG 岛经常发生异常甲基化伴随着基因表达静止是一种遗传性改变,伴有组胺修饰、染色体结构改变而抑制基因转录,当抑癌基因发生此变化时,就可导致肿瘤的发生。正常细胞必须逃避一系列的凋亡信号以及 DNA 的损坏、缺氧等危机才能转变为癌细胞,在肿瘤发生过程中,细胞必须发生改变使其有能力逃避凋亡,由启动子区域异常甲基化而导致 ASC/TMSI 的沉默对癌细胞逃避凋亡有利。

## 2 ASC 甲基化与肿瘤

由于人们发现当 DNA 甲基化转移酶-1(DNA methyltransferase-1, DNMT1)过表达时 TMSI/ASC 发生甲基化,使得许多学者进一步探讨 TMSI/ASC 基因甲基化在人类肿瘤发生中的作用;对一系列乳腺细胞系的检测发现,TMSI/ASC 在正常乳腺上皮细胞中表达,而 45% (5/11) 的乳腺癌细胞系 TMSI/ASC 表达缺失与 TMSI/ASC 基因 CPG 岛高度甲基化相关。上述乳腺癌细胞系经脱甲基药物 5'-氮-2'-脱氧胞苷治疗后表达 TMSI/ASC,表达缺失的细胞系可重新表达 TMSI/ASC,说明腺癌细胞中 TMSI/ASC 表达缺失不是由于转录因子缺失或基因突变,而是由于 TMSI/ASC 甲基化所致;此外,在乳腺癌组织中发现 37% (10/27) 发生 TMSI/ASC 基因异常甲基化。

大量的研究已证明,TMSI/ASC 异常甲基化在乳腺中发生频率为 10%~40%。相继进行的研究证明,TMSI/ASC 异常甲基化可发生在其他恶性肿瘤中,如在胃癌中 11%,在小细胞和非小细胞癌中 40%~41%,恶性黑色素瘤 50%,恶性胶质细胞瘤 44%,卵巢癌 38.9%<sup>[4-5]</sup>,36.1%胆管癌的瘤组织中检测到 TMSI/ASC 基因的异常甲基化,并且在 8.3%邻近肿瘤

的正常组织中也可检测到,在胆管癌中 TMSI/ASC 基因甲基化率高,甲基化可能会抑制 TMSI/ASC,并且它可能对细胞凋亡和免疫监视有抵抗力。通过甲基化作用,TMSI/ASC 基因获得性侵袭可能与胆管癌的致癌作用有关。在恶性胶质瘤中,大范围的 DNA 的频繁甲基化影响了 TMSI 在其中的定位与表达,但并未显示出甲基化状态与患者的年龄和性别有显著关系<sup>[6]</sup>,而胃癌和结肠癌中其甲基化频率则较低。

从目前已知的 TMSI/ASC 功能看,TMSI/ASC 在多种途径中可导致癌变,一种可能是 TMSI/ASC 与正常上皮细胞凋亡有关,涉及到细胞分化。在结肠 ASC 蛋白在控制凋亡的高分化绒毛上皮细胞中高表达,在低分化的腺管细胞中不表达。ASC 蛋白表达与黑色素瘤中黑色素的分泌有关,TMSI/ASC 基因只在分化的黑色素瘤细胞中表达,因此,ASC 基因在维持细胞分化状态时具有重要作用,并可能与细胞凋亡的增殖/分化信号有联系,当 TMSI/ASC 表达缺失时组织易发生癌变。肿瘤抑制因子 p53 被证实结肠癌细胞的化学敏感性中起到决定性的作用。ASC 是 p53 的一个靶基因,它可以调节 p53-Bax 途径。甲基化引起的 ASC 基因的沉默导致了肿瘤对化疗药物的敏感性降低,而去甲基化的药物,如 5'-氮-2'-脱氧胞苷(5-Aza-CdR),则可以恢复 ASC/TMSI 的表达<sup>[6]</sup>。这些事实说明,ASC/TMSI 可以作为治疗癌症化疗耐药的一个新的靶点,这将为肿瘤的治疗开辟一个新的天地。

另一种可能是由于 TMSI/ASC 与免疫反应有关。而机体识别及破坏癌细胞是通过免疫系统而实现的。T 细胞受到肿瘤细胞释放的细胞激酶,如 IL-18、IL-1B 的活化,实现抗肿瘤效应。TMSI/ASC 可通过活化 caspase-1 促进细胞激酶成熟参与这一抗肿瘤免疫反应,当 TMSI/ASC 失表达时,就可影响免疫细胞激活、增殖及抗肿瘤效应<sup>[4]</sup>。而且,TMSI/ASC 参与巨噬细胞对肿瘤细胞的凋亡信号反应。此外,TMSI/ASC 可通过肿瘤细胞上死亡受体与炎症细胞激酶结合而调节细胞凋亡。与 NF- $\kappa$ B 途径的平衡,TMSI/ASC 失表达将破坏免疫细胞引发的凋亡。最后一种可能是 TMSI/ASC 失表达可激活 NF- $\kappa$ B 途径,异常分子 NF- $\kappa$ B 激活可促进肿瘤细胞增殖,促进肿瘤的血管生成和转移。抑制细胞凋亡、NF- $\kappa$ B 的激活经常发生在上皮源性肿瘤和白血病、淋巴瘤中,如果 TMSI/ASC 基因对 NF- $\kappa$ B 有负调控作用,其表达丢失可能激活 NF- $\kappa$ B<sup>[7-9]</sup>。

## 3 ASC 与炎症反应

已有实验研究表明,大鼠急性胰腺炎时,ASC 在胰腺组织中的表达高并诱导 caspase-1 前体的活化,进一步导致 IL-1B 分泌增加,从而引起一系列的炎症反应。这一结果表明由 ASC 诱导的 IL-1B 分泌是 caspase-1 前体自身加工或活化的结果 ASC 的 N 末端和 c 末端分别含有热蛋白样结构域和 caspase 寡聚域,二者都属于死亡结构域。死亡结构域(DDs)和死亡效应结构域(DEDs)家族蛋白参与细胞质内 caspase-1 的活化。ASC 发生寡聚并与 caspase-1 发生半胱天冬氨酸寡聚域间特异性的相互作用,从而诱导 caspase-1 的活化。后者又将 31 ku 的 IL-1B 前体裂解为 17 ku 的有活性的 IL-1B,引起胰腺炎的一系列症状。

## 4 小 结

ASC 是一种肿瘤抑制基因,许多有关报道细胞凋亡的调节,炎症反应胱天蛋白酶的激活和 NF- $\kappa$ B 活(下转第 2681 页)