

· PRINCIPLE OF CARCINOGENESIS ·
· 恶性肿瘤的癌变原理研究专栏 ·

· 主持人:李桂源 ·
· HOST:LI Guiyuan ·

多基因遗传性肿瘤不同阶段转录组学 调控规律及其分子机制

李夏雨^{1,2}, 沈守荣², 武明花^{1,3}, 李小玲^{1,3}, 熊炜^{1,3}, 卢建红^{1,3}, 周鸣^{1,3}, 马健^{1,3},
向娟娟^{1,3}, 曾朝阳^{1,3}, 向波^{1,3}, 周艳宏^{1,3}, 肖岚^{1,3}, 周厚德^{1,4}, 范松青^{1,5}, 李桂源^{1,3}

(中南大学 1. 疾病基因组研究中心, 长沙 410078; 2. 湘雅三医院消化内科, 长沙 410013;
3. 肿瘤研究所, 长沙 410078; 4. 湘雅二医院代谢内分泌研究所,
长沙 410011; 5. 湘雅二医院病理科, 长沙 410011)

[摘要] “多基因遗传性肿瘤不同阶段的转录组学调控规律及其分子机制研究”的国家重大研究计划项目研究团队以肿瘤基因组研究成果为基础,以肿瘤转录组学为主要研究方向,重点对鼻咽癌、乳腺癌、结直肠癌和脑胶质瘤4种多基因遗传性肿瘤的转录组信息及变化规律、抑瘤/易感基因的筛选鉴定、表观遗传学及miRNA调控的作用机制、转录调控相关的特定基因簇/蛋白质群的转录组和蛋白质组的比较和关联4个方面开展深入的研究。分别发现 *SPLUNC1*, *LTF*, *BRD7*, *NOR1*, *BRCA1/2*, *PALB2*, *AF1Q*, *SOX17*, *NGX6*, *SOX7* 和 *LRRC4*等基因在肿瘤始动和侵袭阶段发挥的关键转录调控作用。相继阐明了以 miR-141 为中心的“*SPLUNC1*-miR-141-靶基因”的鼻咽癌基因信号调控网络;以人尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)为靶点的“miR-193b-uPA”的乳腺癌基因交互调控通路;以 *LRRC4* 为节点的“miR-381-*LRRC4*-MEK/ERK/AKT”的胶质瘤基因调控通路以及受结肠癌转移相关基因 *NGX6* 调控的 miRNA 及其靶基因群网络。结果表明多基因遗传性肿瘤发生、发展过程中所涉及的关键信号转导通路中的关键分子的变化将导致信号转导通路和基因调控网络的严重障碍,说明多基因肿瘤在发病学上可能是一类“基因信号转导与基因调控网络障碍性疾病”。这些结果和理论为揭示多基因遗传性肿瘤不同阶段发病过程的转录组学规律及其分子机制提供了实验和理论依据。

[关键词] 多基因; 肿瘤; 转录组学; 表观遗传学; miRNA; 转录调控

DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2011.07.001

Transcriptomic regulation and molecular mechanism of polygenic tumor at different stages

LI Xiayu^{1,2}, SHEN Shourong², WU Minghua^{1,3}, LI Xiaoling^{1,3}, XIONG Wei^{1,3}, LU Jianhong^{1,3},
ZHOU Ming^{1,3}, MA Jian^{1,3}, XIANG Juanjuan^{1,3}, ZENG Zhaoyang^{1,3}, XIANG Bo^{1,3},
ZHOU Yanhong^{1,3}, XIAO Lan^{1,3}, ZHOU Houde^{1,4}, FAN Songqing^{1,5}, LI Guiyuan^{1,3}

(1. Disease Genomic Research Center, Central South University, Changsha 410078; 2. Department of Gastroenterology, Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013; 3. Cancer Research Institute, Central South University, Changsha 410078; 4. Institute of Metabolism and Endocrinology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011; 5. Department of Pathology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

收稿日期 (Date of reception) 2011-06-20

作者简介 (Biography) 李夏雨,博士,主要从事恶性肿瘤转录组表达调控研究。

通信作者 (Corresponding author) 李桂源, E-mail: ligy@xysm.net

基金项目 (Foundation items) 国家重大科学研究计划 (2006CB910500, 2006CB910502, 2006CB910504)。 This work was supported by the National Key Scientific Program (2006CB910500, 2006CB910502, 2006CB910504).

Abstract: The research team on the National Key Scientific Program of China: "Transcriptomic regulation and molecular mechanism research of polygenic tumor at different stages" has focused on the field of transcriptomics of 4 common polygenic tumors, including nasopharyngeal carcinoma (NPC), breast cancer, colorectal cancer, and glioma. Extensive laboratory work has been carried out on the expression and regulation of tumor transcriptomics; identification of tumor suppressor/susceptible genes; mechanism of tumor epigenetics including miRNAs, and comparative study of specific gene/protein cluster of tumor transcriptomics and proteomics. Genes including *SPLUNC1*, *LTF*, *BRD7*, *NOR1*, *BRCA1/2*, *PALB2*, *AF1Q*, *SOX17*, *NGX6*, *SOX7*, and *LRRC4* have been identified as the key transcriptional regulation genes during the stage of tumor initiation and invasion. Accordingly, the NPC gene signal regulation network of "*SPLUNC1*-miR-141-target genes", the breast cancer interaction signal pathway of "miR-193b-uPA", the glioma signal network of "miR-381-*LRRC4*-MEK/ERK/AKT", and the miRNA-target gene network of colorectal cancer metastasis related gene *NGX6* have been thoroughly elucidated. These fruitful results imply that the changes of key molecules in crucial signal pathway will cause severe dysfunction in signal transduction and gene regulation network in polygenic tumors, indicating that in the category of pathogenesis, these tumors may further classify as the "Disease of gene signal transduction and gene regulation network disorder". The researches have laid solid foundation for revealing the molecular mechanism and transcriptomic regulation of polygenic tumors at different stages.

Key words: polygenic; tumor; transcriptomics; epigenetics; miRNA; transcriptional regulation

大多数人类恶性肿瘤为多基因遗传性肿瘤,是一类复杂性疾病。这类肿瘤在发病学上具有4个显著特征:一是存在明显的家族聚集倾向,基因组不稳定,易受理化因素、生物等环境因素的影响;二是此类肿瘤都要经过癌前病变、原位癌、浸润癌以及中晚期浸润和远处扩散转移等不同的发病阶段,发生、发展过程中的多阶段性呈现一个连续过程;三是在发病学早期即已存在特定的生物大分子的结构与功能的改变,而且在癌变的连续过程中这种改变不是固定的而是动态的;四是近年的研究^[1-2]证实恶性肿瘤在发生、发展过程中均涉及关键信号转导通路中关键分子的急剧变化,从而导致信号转导通路的严重障碍。根据这些显著特征,目前以肿瘤基因组、转录组、蛋白质组及代谢组学为代表的研究方向受到了广泛关注;而以寻找肿瘤早期诊断、预后及转归的分子标志物并进一步揭示肿瘤分子发病机制为核心内容的研究成为了肿瘤基础领域的热点问题。“多基因遗传性肿瘤不同阶段的转录组学调控规律及其分子机制研究”的国家重大研究计划项目研究团队对此开展了广泛而深入的研究。该团队对鼻咽癌、乳腺癌、结直肠癌和脑胶质瘤4种中国常见的多基因遗传性肿瘤多阶段发病过程中的4个方面进行了深入探讨:1)转录组信息和变化规律;2)抑瘤/易感基因的筛选鉴定;3)表观遗传学及 microRNA (miRNA) 调控的作用机制;4)转录调控相关的特定

基因簇/蛋白质群的转录组和蛋白质组的比较和关联研究。同时为该领域的进一步发展提出展望。

1 多基因肿瘤发病过程中组学信息特征及变化规律

转录组学和蛋白质组不同于基因组所提供的既定的生物指令,前二者主要反映的是检测样本细胞内转录本、蛋白质的时空特征,具有动态变化的特征。通过研究肿瘤发生、发展不同时间(阶段)序列的信息特征和变化规律能够获取肿瘤发病过程中转录水平和蛋白水平的全貌,其本质是动态的^[3]。基于此理念,研究者可采用高通量基因芯片对正常组织和不同阶段肿瘤组织进行基因差异表达分析,并结合不同阶段的病理以及临床特征来鉴定特征性差异表达基因群用于肿瘤分子标志物的筛选及临床预后判断。Zeng等^[4]通过对22例不同分化阶段鼻咽癌组织以及正常鼻咽上皮组织进行差异表达谱分析,鉴定了503个差异基因,生物信息学分析揭示其中大多数基因参与Wnt,转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号通路。Li等^[5]对高转移性乳腺癌细胞系的蛋白质组进行差异分析后发现*PDX6*,*CRAB*及*TPM4*等11种差异蛋白,临床样本的结果进一步证实*TPM4*与临床阶段

相关。Su 等^[6]采用转录因子芯片对鼻咽癌不同阶段样本的活性差异转录因子变化规律进行研究,发现 *AP2* 和 *ATF1/2* 等转录因子的活性与鼻咽癌的临床进展呈正相关。基因表达谱、蛋白质组结果表明与鼻咽癌进展密切相关的早期基因有 *SPLUNC1*, *NOR1*, *p16*, *RASSF1A* 及 *RBI* 等,这些基因主要参与固有免疫、Toll 样受体、趋化因子等信号通路,提示这些基因多与机体免疫相关;同时 *LTF*, *EGFR*, *EZRIN*, *nm23*, *TIMP* 及 *MMP-16* 等代表晚期的差异基因主要参与细胞外基质受体交互作用、灶性黏附、MAPK 等通路,提示其与进展期的肿瘤侵袭、转移和血管形成等恶性表型密切相关^[7]。在对不同阶段结直肠癌动态转录组差异表达谱的基因注释和通路分析中也得到了类似的结论^[8]。这说明不同肿瘤的基因表达虽然在转录水平和蛋白水平存在较大的差异,但重要的信号通路在不同的肿瘤中却存在共同的规律。通过对组学数据分析发现:多基因肿瘤的始动和侵袭过程是分子水平变化最为显著的 2 个关键阶段。

2 多基因肿瘤抑瘤/易感基因的分 离鉴定及调控机制

组学研究的目的是利用高通量生物技术对海量数据进行筛选与提炼,然后对关键基因及其通路进行功能机制分析与鉴定,这同时也是对组学研究结果的衍生与验证。组学数据提示肿瘤始动和侵袭过程应该作为进一步研究的焦点;而对相关过程中出现的关键基因进行分离鉴定和表达调控机制研究则显得尤为重要。通过深入的研究发现:一些基因如鼻咽癌中的 *SPLUNC1*, *LTF*, *BRD7*, *NOR1* 等,乳腺癌中的 *BRCA1/2*, *PALB2*, *AF1Q* 及 *SOX17* 等,结肠癌中的 *NGX6* 和 *SOX7* 等,胶质瘤中的 *LRRC4* 等均在肿瘤易感性和不同阶段肿瘤的转录调控中发挥重要作用。

在鼻咽癌细胞中,*SPLUNC1* 能够阻止鼻咽癌致癌病毒 EBV 对细胞的永生化,*SPLUNC1* 的表达与 *LMP1* 的表达呈现明显的负相关^[9]。在对 *SPLUNC1* 差异表达 miRNA 的筛选中还发现 *SPLUNC1* 能够显著下调 miR-141 的表达,并通过 *PTEN/AKT* 途径影响细胞增殖^[10]。同时研究发现鼻咽癌组织中与 EBV 共同存在的致病菌——纳米细菌,可以促进 EBV 的基因组整合入上皮细胞;而 *SPLUNC1* 蛋白可以明显抑制纳米细菌进入胞内进而阻止鼻咽上皮的恶性转化^[11]。这说明 *SPLUNC1* 作为鼻咽癌基因组

转录调控的主效基因在相关信号通路中发挥主控作用,这是细胞内外环境与基因交互作用的典型例证,揭示了细菌、病毒介导的“炎-癌”链是鼻咽癌发生早期和演进过程中的重要分子机制。

定位于 3p21 遗传易感区的 *LTF* 是预测鼻咽癌侵袭与转移的分子靶标。Zhou 等^[12-14]在正常鼻咽上皮与鼻咽癌组织的差异表达谱和组织芯片分析中发现,*LTF* 的表达显著下调。进一步分析发现 T1 和 TII 期的 *LTF* 阳性率约为 61.25%;而在代表 TIII/TIV 期的晚期鼻咽癌组织中 *LTF* 的阳性率下降至 40.82%,且与淋巴转移相关。细胞学和分子生物学实验证实它主要通过调控细胞周期和 MAPK 信号转导通路抑制鼻咽癌细胞增殖。这些结果提示 *LTF* 可能作为重要的抑瘤基因与鼻咽癌不同阶段的侵袭转移过程密切联系。

BRD7 是一个具有抑制细胞周期进程和细胞增殖功能的核转录因子,通过与 *BRD2* 的交互作用形成 *BRD7-BRD2* 二聚体发挥诱导细胞凋亡的功能^[15-16]。研究表明 *BRD7* 能够作为 p53 的辅助因子参与 p53 依赖的瘤基因诱导细胞衰老,是重要的抑瘤功能基因^[17]。本课题组通过信号通路的整合分析和功能证实 13 个受 *BRD7* 调控的差异表达基因以及 *p-MERK* 和 *p-ERK1/2* 两个磷酸化水平改变的基因,其中主要涉及 Ras/MEK/ERK 和 Rb/E2F 信号通路,说明 *BRD7* 通过这 2 条通路抑制鼻咽癌细胞周期进程和细胞增殖。同时 *BRD7* 能够抑制 β -catenin 的核聚集,下调 TCF4 启动子活性,从而参与对 Wnt 通路的调节^[18]。

NOR1 基因编码一个新定位于线粒体的应激反应性蛋白,受转录因子 HSF1 和 NRF1 调控,选择性高表达于鼻咽、气管组织黏膜上皮细胞^[19]。*NOR1* 一方面通过结合线粒体 ATP 合成酶、抑制 *PDHK1*, 逆转肿瘤细胞 Warburg 效应,抑制肿瘤细胞增殖;另一方面,*NOR1* 通过上调线粒体 Bax/Bcl2 比例,激活 caspase9-caspase3-PARP 途径促进代谢应激和氧化应激诱导的细胞凋亡,抑制肿瘤细胞在应激状态(缺氧、缺糖、氧化应激)下的存活^[20]。

Shao 课题组针对乳腺癌遗传易感基因和转移相关基因进行了鉴定与调控机制研究。其中遗传易感基因分为 *BRCA1/2* 突变型和非 *BRCA1/2* 突变型(*PALB2*)。他们发现 *BRCA1/2* 在中国人群中突变率约为 10%;乳腺癌家系中 *BRCA1* 基因第 11 和 24 号外显子存在 1100delAT 和 5589del8 两个特定移码突变,突变率为 33.3%,并建立了基于 500 例有遗传倾向乳腺癌患者的 *BRCA1/2* 突变预测模型,该模型优

于 BRCAPro, Couch, Sh-E 等国外模型^[21]。此外在对 660 例中国汉族乳腺癌患者和 756 例正常对照人群的 6 个 *PALB2* 的 SNP 位点的连锁分析中发现 rs447529 和 rs249935 位点频率具有显著性差异,提示 *PALB2* 基因可作为乳腺癌易感基因用于国人乳腺癌的分子诊断靶标^[22]。在乳腺癌转移相关基因的探索中发现 *AF1Q* 作为乳腺癌转移相关基因,其过

表达能够促进乳腺癌细胞的增殖和侵袭,转染该基因后发现 *Irga3*, *Ets-1*, *MMP-2* 基因表达明显增高,并增强了乳腺癌细胞的增殖和侵袭能力。在移植瘤模型中对 *AF1Q* 的干扰能够显著抑制移植瘤的生长和肺转移的能力^[23]。多基因遗传性肿瘤关键基因及其参与的信号转导通路详见表 1。

表 1 4 种多基因遗传性肿瘤关键基因及其参与的信号转导通路一览表

Tab. 1 Major genes and signal pathway involved in 4 common polygenic tumors

多基因肿瘤	重要功能基因	参与信号通路
鼻咽癌	<i>SPLUNC1</i> , <i>LTF</i> , <i>NOR1</i> , <i>BRD7</i> , <i>NAG7</i> 和 <i>LPLUNC1</i> 等。	Wnt/ β -catenin, ras/MEK/ERK, JNK, Rb/E2F, AKT, 细胞周期, p53 通路, 细胞外基质-受体相互作用, 免疫反应相关通路以及酶活性通路。
乳腺癌	<i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>PALB2</i> , <i>AF1Q</i> , <i>DARC</i> , <i>p53</i> , <i>GSTM1</i> , <i>NQO2</i> , <i>GADD45A</i> , <i>SOX17</i> , <i>EPHA5</i> , <i>PDX6</i> , <i>Rab-27</i> , <i>MMP9</i> , <i>SPARC</i> , <i>MKI67</i> , <i>PCNA</i> , <i>CXCR4</i> , <i>BAG1</i> , <i>MELK</i> , <i>VCAM1</i> , <i>IL18</i> , <i>HIST1H4H</i> , <i>ESR1</i> , <i>SCUBE2</i> , <i>GSTM3</i> 和 <i>SERF1A</i> 等。	DNA 修复通路, Wnt, JNK, Rb/E2F, 细胞周期相关通路, 氧化磷酸化通路, 细胞连接相关通路, ECM-受体相互作用相关通路, 轴突导向相关通路以及细胞黏着斑相关通路。
结直肠癌	<i>NGX6</i> , <i>SOX7</i> , <i>ITGB1</i> , <i>HSPA9B</i> , <i>MAPK8</i> , <i>PAG</i> , <i>RANGAPI</i> , <i>SRC</i> 和 <i>CDC2</i> 等。	Wnt, ras/MEK/ERK, JNK, Rb/E2F, PI3K/AKT, ECM-受体相互作用相关通路, 免疫反应相关通路以及细胞黏附相关通路等。
脑胶质瘤	<i>LRRCA4</i> , <i>RAP1B</i> , <i>JUN</i> , <i>FOS</i> , <i>JAK2</i> , <i>STAT1</i> , <i>TCF7L1</i> , <i>TRL3</i> , <i>IκB</i> , <i>TRL3</i> , <i>MYD88</i> , <i>DUSP8</i> , <i>APC</i> 和 <i>CYLD</i> 等。	ras/MEK/ERK, Wnt, NF- κ B, PI3K/AKT 以及细胞黏附相关通路等。

3 表观遗传修饰以及 miRNA 调控在肿瘤发生过程中的作用机制

肿瘤表观遗传学研究主要涉及 DNA 甲基化作用的改变、染色质组蛋白的修饰作用、染色质重塑及非编码 RNA 如 miRNA 等调控方式的改变,这些改变也是贯穿于肿瘤发生、发展的全过程^[24]。Liu 等^[25]在鼻咽癌细胞中发现 *BRD7* 的启动子区域甲基化能够抑制 *BRD7* 基因启动子活性,且鼻咽癌患者的癌组织和血液样本中 *BRD7* 的甲基化频率明显高于正常人群。Fu 等^[26]在对 5 种乳腺癌细胞株和 31 例肿瘤标本的表达分析中发现:*SOX17* 作为经典 Wnt/ β -catenin 信号通路的拮抗转录因子在乳腺癌中表达明显下调,这与其甲基化水平密切相关;在采用去甲基化药物 5-aza-dC 干预后, *SOX17* 的 mRNA 显著上升;在临床样本中也发现 *SOX17* 甲基化水平与乳腺癌的分期和淋巴结转移密切相关,结果提示 *SOX17* 的超甲基化与乳腺癌中 Wnt 信号通路的异常活化有着密切的联系。Zhang 等^[27]发现与 *SOX17* 同为 SOX 家族成员的 *SOX7* 在结肠癌中表达

下调,调控机制部分与该基因启动子区的甲基化水平相关;而恢复 *SOX7* 的表达能够诱导癌细胞的凋亡抑制增殖和细胞集落的形成。另外 Liu 等^[28]分别对 40 例结肠癌及配对正常黏膜样本的 *NGX6* 基因的甲基化水平测定后发现,肿瘤样本中甲基化水平更为显著,且与患者年龄相关;采用去甲基化药物干预后, *NGX6* 的 mRNA 表达得到显著恢复。*LRRCA4* 是亮氨酸重复片断超家族成员,也是脑胶质瘤中发现的候选抑瘤基因。由于前期研究结果表明胶质瘤细胞和组织中 *LRRCA4* 的编码区未发生突变、缺失或重排,因此 Zhang 等^[29]采用去甲基化制剂 5-Aza-CdR 处理 *LRRCA4* 表达缺失的 SF126 和 SF767 胶质瘤细胞,采用 MSP 和 RT-PCR 检测发现 *LRRCA4* 的启动子在表达缺失的 SF126 和 SF767 细胞存在完全的甲基化;而 5-Aza-CdR 能逆转 *LRRCA4* 启动子的甲基化状态并恢复 *LRRCA4* 的表达。该结果提示 *LRRCA4* 启动子异常甲基化是其在胶质瘤细胞中表达缺失的重要机制。上述一系列结果说明表观遗传学特别是 DNA 甲基化的改变是各种抑瘤基因异常失活的重要机制,相关甲基化位点的发现将为去甲基化治疗的靶标提供科学依据。

近年发现的新型小分子非编码 RNA—miRNA 是一种广泛存在于动、植物、真菌等多细胞生物物种中进化高度保守的转录后调控小分子。人类来源 miRNA 预测达上千个,这些 miRNA 共同构成了人 miRNA 组。MiRNA 通过与靶基因的 3'端非翻译区特异结合起到抑制翻译的转录后负性调控作用^[30]。而在肿瘤细胞中,由于基因组不稳定性 and 机体内外环境因素的干预,其 miRNA 表达也由此发生了改变。目前证实肿瘤基因组中发生的突变、扩增、缺失、染色体易位以及 DNA 甲基化和组蛋白修饰均可导致 miRNA 的异常改变^[31-33]。本研究团队采用组学手段对不同阶段肿瘤的 miRNA 表达谱进行差异筛选,然后将关键 miRNA 进行下游调控靶基因和上游基因调控元件的功能和机制研究,先后对不同阶段或不同表型的鼻咽癌、结直肠癌、胶质瘤、乳腺癌的高通量 miRNA 数据进行基于基因信号调控网络的整合,相继阐明了以 miR-141 为中心的鼻咽癌易感基因 *SPLUNC1*-miR-141-靶基因信号通路调控网络^[10],以胶质瘤抑瘤基因 *LRR4* 为节点的 miR-381-*LRR4*-MEK/ERK/AKT 调控通路^[34],以乳腺癌中高表达的人尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)为靶点的 miR-193b-uPA 交互调控通路^[35]和以结肠癌转移相关基因 *NGX6* 调控的 miRNA 及其靶基因群网络^[36]。研究中采用的生物信息学的理论和方法较好地 将 miRNA-靶基因及其围绕二者交互作用相关的基因信号转导网络系统的整合起来,分层次地阐明肿瘤相关 miRNA 在肿瘤发生、发展中所扮演的重要角色。同时李夏雨^[8]还特别在传统的单时相、差异比较信号通路研究基础上引入肿瘤演进过程中动态时相的观察角度,提出了基于时间(阶段)序列的“动态转录组”的基本概念,该概念的提出对于进一步研究和挖掘不同阶段肿瘤转录组的海量数据,揭示肿瘤演进过程中存在的关键调控基因及其信号通路起到了积极的导向作用。

4 转录调控相关的特定基因簇/蛋白质群的转录组和蛋白质组的比较和关联研究

组学研究的另一重要内容是整合各基因调控网络,发现其中的相互联系和共同特点,归纳总结网络中关键的调控分子(群)。多基因遗传性肿瘤具有极为复杂的分子调控网络,一个网络通常可由成百甚至上千个基因及其产物构成,这无疑对研究多基因遗传性肿瘤分子调控机制带来了巨大的挑战。

但随着基于组学的生物信息学方法和各种生物数据库的不断建立和完善,人们可将实验中所产生的组学数据与在线数据库(如 GO,KEGG 等)进行比对和整合,使庞大复杂的网络主干化、明晰化^[37-38]。事实上,复杂性网络在很大程度上却是由几个或者多个关键的网络节点或网络中心所支配,而这些关键网络节点/中心由各个关键基因或基因簇(群)所支配^[39]。以鼻咽癌为例,李小玲^[7]通过对不同发病阶段转录组数据的分析,得到了 8 个最主要的鼻咽癌发病相关基因簇:细胞周期相关基因簇、细胞增殖相关基因簇、细胞动力学相关基因簇、p53 信号通路相关基因簇、细胞外基质受体交互作用相关基因簇、体液免疫反应相关基因簇、酶活性抑制物相关基因簇、固有免疫相关基因簇等。李夏雨^[8]在对不同阶段结直肠癌的表达谱研究中发现,I 期癌组织表达异常基因涉及的主要信号通路是 MAPK 和细胞因子受体交互作用通路,II 期癌是各种代谢通路,III 期癌仍是细胞因子受体交互作用通路,IV 期癌是 MAPK 通路。李丹^[40]在不同分级的胶质瘤表达谱研究中发现随着胶质瘤分级的不断进展,诸如 RNA 剪切相关基因簇在整个分子调控网络中位置不断发生变化,其表达成分也产生了相应的改变。综合上述结果可以发现不论是鼻咽癌、乳腺癌、结直肠癌还是脑胶质瘤,其相关代表性基因(簇)所参与的信号转导通路均具有共同特征。*SPLUNC1*, *LTF*, *NOR1* 及 *BRD7* 等鼻咽癌基因群, *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* 及 *AF1Q* 等乳腺癌基因群, *NGX6* 和 *SOX7* 结直肠癌基因群以及 *LRR4*, *RAP1B*, *JUN* 及 *FOS* 脑胶质瘤基因群均不同程度地参与了 MAPK, AKT, WNT, p53 及细胞周期等信号通路的异常改变(图 1)。由此说明多基因遗传性肿瘤虽涉及复杂的基因信号网络,但在其发生、发展过程中均涉及到关键信号转导通路中的关键分子的变化,从而导致信号转导通路和基因调控网络的严重障碍。这些证据表明多基因遗传性肿瘤是一类基因信号转导与基因调控网络障碍性疾病。

综上,本研究团队通过对国内常见的 4 种多基因遗传恶性肿瘤不同阶段转录组学调控规律及其分子机制的研究,初步明确了肿瘤关键性基因在肿瘤发病机制中的作用及关键信号通路;发现在上述肿瘤多阶段发病过程中虽转录组和蛋白质组变化各异,参与肿瘤发生的功能基因也可能不尽相同,甚至差别很大,但它们参与的信号转导通路基本一致,达到了发病机制的“殊途同归”,从而构成肿瘤发病共同的“基因-mRNA/miRNA-蛋白质”分子调控网络。尽管本研究团队根据所获得的实验证据提出了多基因肿瘤是

一类信号转导与基因调控网络障碍性疾病,但这只是建立在不同临床阶段转录组动态变化的实验证据基础之上;而真正的分子改变更可能是由恶性肿瘤在发生、发展过程中的时间序列所决定。恶性肿瘤阶段序列所表达的分子变化只是一种宏观动态的变化,只有恶性肿瘤发生、发展过程中的时间序列的改变才是一种能反映恶性肿瘤发生、发展本质的微观动态变化。因此,今后研究工作的重心应由恶性肿瘤阶段序列的宏观动态变化向时间序列的微观动态变化转变。同时,由恶性肿瘤的信号转导障碍所构

成的基因网络调控障碍是否为多基因遗传肿瘤的一个共同规律尚需在其他恶性肿瘤中进行验证,并需深入了解信号转导与基因调控网络中控制恶性肿瘤发生、发展的关键分子事件和生化反应环节。只有了解了上述分子机制才能为进一步的肿瘤分子个体化诊断与治疗提供精确的分子靶点。

志谢:衷心感谢复旦大学乳腺癌研究所邵志敏教授、东北师范大学生命科学学院黄百渠教授的研究团队为本研究做出的重要贡献!

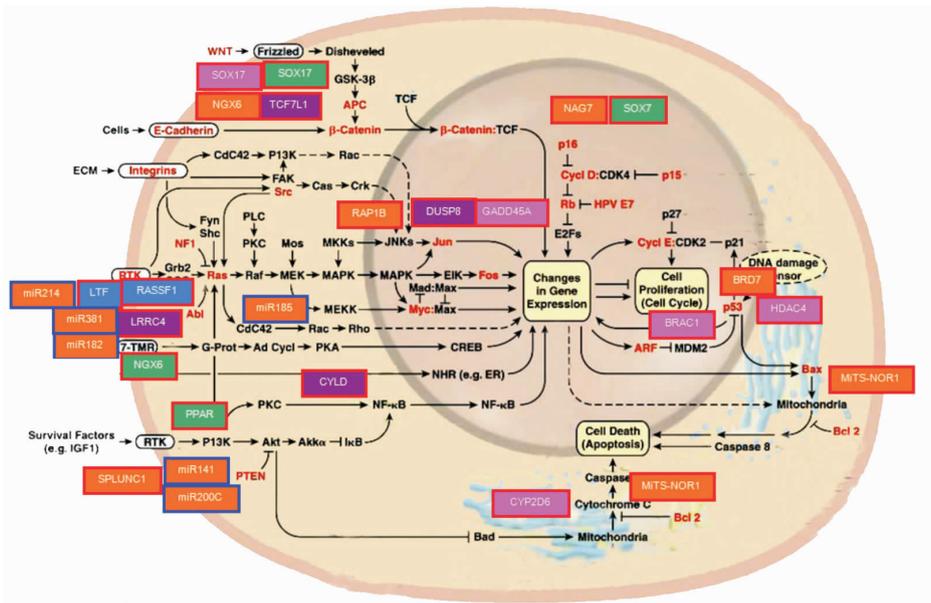


图 1 多基因遗传性肿瘤关键基因参与的主要信号转导通路示意图。

Fig. 1 Illustration of major genes and signal pathways of polygenic tumor.

参考文献:

[1] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer; the next generation[J]. Cell, 2011,144(5):646-674.
 [2] Hu T, Li C. Convergence between Wnt-beta-catenin and EGFR signaling in cancer[J]. Mol Cancer, 2010,9:236.
 [3] Androulakis I P, Yang E, Almon R R. Analysis of time-series gene expression data: methods, challenges, and opportunities [J]. Annu Rev Biomed Eng, 2007, 9:205-228.
 [4] Zeng Z Y, Zhou Y H, Zhang W L, et al. Gene expression profiling of nasopharyngeal carcinoma reveals the abnormally regulated Wnt signaling pathway [J]. Hum Pathol, 2007, 38(1): 120-133.
 [5] Li D Q, Wang L, Fei F, et al. Identification of breast cancer metastasis-associated proteins in an isogenic tumor metastasis model using two-dimensional gel electrophoresis and liquid chromatography-ion trap-mass spectrometry [J]. Proteomics, 2006, 6(11):3352-3368.

[6] Su B, Tang H L, Deng M, et al. Stage-associated dynamic activity profile of transcription factors in nasopharyngeal carcinoma progression based on protein/DNA array analysis [J]. OMICS, 2011, 15(1/2):49-60.
 [7] 李小玲. 人鼻咽癌基因组生物信息学分析与基因差异表达谱的构建[D]. 长沙:中南大学,2008.
 LI Xiaoling. Bioinformatics analysis of human nasopharyngeal carcinoma genome and its construction of different gene expression profiling [D]. Changsha:Central South University,2008.
 [8] 李夏雨. 不同阶段结肠癌动态转录组与表达调控网络构建的生物信息学分析[D]. 长沙:中南大学,2010.
 LI Xiayu. Bioinformatic analysis of dynamic transcriptome and the construction of expression regulation network multi-step colorectal cancer[D]. Changsha:Central South University,2010.
 [9] Zhou H D, Li X L, Li G Y, et al. Effect of SPLUNC1 protein on the pseudomonas aeruginosa and Epstein-Barr virus [J]. Mol Cell Biochem, 2008, 309(1/2):191-197.
 [10] Zhang L M, Deng T, Li X Y, et al. MicroRNA-141 is involved in a nasopharyngeal carcinoma-related genes network [J]. Carcinogenesis, 2010,31(4):559-566.

- [11] Zhou H D, Li G Y, Yang Y X, et al. Intracellular co-localization of SPLUNC1 protein with nanobacteria in nasopharyngeal carcinoma epithelia HNE1 cells depended on the bactericidal permeability increasing protein domain [J]. *Mol Immunol*, 2006, 43(11):1864-1871.
- [12] Zhou Y, Zeng Z, Zhang W, et al. Lactotransferrin: a candidate tumor suppressor—Deficient expression in human nasopharyngeal carcinoma and inhibition of NPC cell proliferation by modulating the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(9):2065-2072.
- [13] Xiong W, Zeng Z Y, Xia J H, et al. A susceptibility locus at chromosome 3p21 linked to familial nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(6):1972-1974.
- [14] Zhou Y, Zeng Z, Zhang W, et al. Identification of candidate molecular markers of nasopharyngeal carcinoma by microarray analysis of subtracted cDNA libraries constructed by suppression subtractive hybridization [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2008, 17(6):561-571.
- [15] Zhou M, Xu X J, Zhou H D, et al. BRD2 is one of BRD7-interacting proteins and its over-expression could initiate apoptosis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2006, 292(1/2):205-212.
- [16] 周鸣, 彭聪, 聂新民, 等. BRD7 交互作用蛋白基因 BRD2, BRD3 在鼻咽癌组织中的表达 [J]. *癌症*, 2003, 22(2):123-127. ZHOU Ming, PENG Cong, NIE Xinmin, et al. Expression of BRD7-interacting proteins, BRD2 and BRD3, in nasopharyngeal carcinoma tissues [J]. *Journal of Chinese Cancer*, 2003, 22(2):123-127.
- [17] Drost J, Mantovani F, Tocco F, et al. BRD7 is a candidate tumour suppressor gene required for p53 function [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(4):380-389.
- [18] Peng C, Liu H Y, Zhou M, et al. BRD7 suppresses the growth of nasopharyngeal carcinoma cells (HNE1) through negatively regulating beta-catenin and ERK pathways [J]. *Mol Cell Biochem*, 2007, 303(1/2):141-149.
- [19] Xiang B, Yi M, Wang L, et al. Preparation of polyclonal antibody specific for NOR1 and detection of its expression pattern in human tissues and nasopharyngeal carcinoma [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2009, 41(9):754-762.
- [20] 向波. 线粒体蛋白 C1ORF102 调控鼻咽癌细胞能量代谢的机制研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2009. XIANG Bo. Molecular mechanism of the effect on energy metabolism of nasopharyngeal carcinoma 5-8F cell line by mitochondrial protein C1ORF102 [D]. Changsha: Central South University, 2009.
- [21] Rao N Y, Hu Z, Yu J M, et al. Evaluating the performance of models for predicting the BRCA germline mutations in Han Chinese familial breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 116(3):563-570.
- [22] Cao A Y, Yu K D, Yin W J, et al. Five common single nucleotide polymorphisms in the *PALB2* gene and susceptibility to breast cancer in eastern Chinese population [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 123(1):133-138.
- [23] Chang X Z, Li D Q, Hou Y F, et al. Identification of the functional role of AF1Q in the progression of breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 111(1):65-78.
- [24] 刘华英, 彭淑平, 周鸣, 等. 鼻咽癌的表现遗传学研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2007, 34(7):673-681. LIU Huaying, PENG Shuping, ZHOU Ming, et al. Progress of epigenetic study on nasopharyngeal carcinoma [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2007, 34(7):673-681.
- [25] Liu H, Zhang L, Niu Z, et al. Promoter methylation inhibits BRD7 expression in human nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *BMC Cancer*, 2008, 8:253.
- [26] Fu D Y, Wang Z M, Li C, et al. Sox17, the canonical Wnt antagonist, is epigenetically inactivated by promoter methylation in human breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 119(3):601-612.
- [27] Zhang Y, Huang S, Dong W, et al. SOX7, down-regulated in colorectal cancer, induces apoptosis and inhibits proliferation of colorectal cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2009, 277(1):29-37.
- [28] Liu M, Peng Y, Wang X, et al. NGX6 gene mediated by promoter methylation as a potential molecular marker in colorectal cancer [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10:160.
- [29] Zhang Z, Li D, Wu M, et al. Promoter hypermethylation-mediated inactivation of LRRC4 in gliomas [J]. *BMC Mol Biol*, 2008, 9:99.
- [30] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2):281-297.
- [31] Calin G A, Sevignani C, Dumitru C D, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(9):2999-3004.
- [32] Esquela-Kerscher A, Slack F J. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(4):259-269.
- [33] Garzon R, Fabbri M, Cimmino A, et al. MicroRNA expression and function in cancer [J]. *Trends Mol Med*, 2006, 12(12):580-587.
- [34] Tang H, Liu X, Wang Z, et al. Interaction of hsa-miR-381 and glioma suppressor LRRC4 is involved in glioma growth [J]. *Brain Res*, 2011, 1390:21-32.
- [35] Li X F, Yan P J, Shao Z M. Downregulation of miR-193b contributes to enhance urokinase-type plasminogen activator (uPA) expression and tumor progression and invasion in human breast cancer [J]. *Oncogene*, 2009, 28(44):3937-3948.
- [36] Wang X Y, Wu M H, Liu F, et al. Differential miRNA expression and their target genes between NGX6-positive and negative colon cancer cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2010, 345(1/2):283-290.
- [37] Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology (GO) project in 2006 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(Database issue):D322-326.
- [38] Kanehisa M, Goto S, Kawashima S, et al. The KEGG resource for deciphering the genome [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(Database issue):D277-280.
- [39] Barabasi A L, Oltvai Z N. Network biology: understanding the cell's functional organization [J]. *Nat Rev Genet*, 2004, 5(2):101-113.
- [40] 李丹. 胶质瘤不同病理级别差异 miRNA/mRNA 动态表达谱构建及其对接研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2010. LI Dan. Dynamics expression profiles of miRNA/mRNA and docking study in gliomas with different pathological grades [D]. Changsha: Central South University, 2010.