

Res, 2004, 161(6): 703-711.

- 20 朱广迎, 梁克, 蔡伟明. 978-1 对小鼠放射性脑损伤的作用及分子机制. 中华放射肿瘤学杂志, 2001, 10(1): 38-41.
- 21 Danton GH, Dietrich WD. The search for neuroprotective strategies in stroke. Am J Neuroradiol, 2004, 25(2): 181-194.
- 22 Tirilazad International Steering Committee. Tirilazad mesylate in acute ischemic stroke: A systematic review. Stroke, 2000, 31(9): 2257-2265.
- 23 Guelman LR, Zorrilla Zubilete MA, Rios H, et al. GM1 ganglioside treatment protects against long-term neurotoxic effects of neonatal X-irradiation on cerebellar cortex cytoarchitecture and motor function. Brain Res, 2000, 858(2): 303-311.
- 24 唐亚梅, 张殷殷, 王莉梅, 等. 神经节苷酯对鼠脑放射性损伤后空间学习记忆力下降的影响. 中国临床康复, 2005, 9(16): 254-

256.

- 25 Epperly MW, Tyurina YY, Nie S, et al. MnSOD-plasmid liposome gene therapy decreases ionizing irradiation-induced lipid peroxidation of the esophagus. In Vivo, 2005, 19(8): 997-1004.
- 26 Soares MP, Seldon MP, Gregoire IP, et al. Heme oxygenase-1 modulates the expression of adhesion molecules associated with endothelial cell activation. J Immunol, 2004, 172(6): 3553-3563.
- 27 Lu F, Wong CS. A clonogenic survival assay of neural stem cells in rat spinal cord after exposure to ionizing radiation. Radiat Res, 2005, 163(1): 63-71.
- 28 Rezvani M, Birds DA, Hodges H, et al. Modification of radiation myelopathy by the transplantation of neural stem cells in the rat. Radiat Res, 2001, 156(4): 408-412.

(收稿日期: 2006-05-24)

## 宫颈癌辐射敏感性相关基因的研究进展

李红艳 贺桂芳 陈志华

**【摘要】** 放射治疗前, 对宫颈癌患者进行辐射敏感性检测以预测放疗效果的研究在肿瘤治疗中有很好的应用前景。根据细胞基因表达水平预测辐射敏感性及基因治疗逆转宫颈癌放射抵抗成为研究热点。影响宫颈癌辐射敏感性的基因主要有细胞增殖、凋亡基因和肿瘤细胞乏氧相关基因等, 而基因芯片法分析多个辐射敏感相关基因, 对于预测宫颈癌的辐射敏感性和治疗可能更有意义。

**【关键词】** 宫颈肿瘤; 辐射耐受性; 基因

**【中图分类号】** R730.55 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)01-0044-04

### The development of genes associated with radiosensitivity of cervical cancer

LI Hong-yan<sup>1</sup>, HE Gui-fang<sup>2</sup>, CHEN Zhi-hua<sup>1</sup>

( 1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, China-Japan Friendship Institute of Clinical Medical Sciences, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China )

**【Abstract】** It has a good application prospect to predict effects of radiotherapy by examining radiosensitivity of patients with cervical cancers before their radiotherapy. Prediction of tumor cell radiosensitivity according to their level of gene expression and gene therapy to reverse radio-resistance prior to radiation on cervical cancers are heated researches on tumor therapy. The expression of some proliferation-related genes, apoptosis-related genes and hypoxia-related genes can increase the radiosensitivity of cervical cancer. Microarray technology may have more direct applications to the study of biological pathway contributing to radiation resistance and may lead to development of alternative treatment modalities.

**【Key words】** Cervical neoplasms; Radiation tolerance; Gene

宫颈癌是我国女性最常见的恶性肿瘤之一, 其治疗方案与肿瘤分期密切相关, I 期、II A 期以切

除术为主, 辅助放疗; II B 期以上以放疗为主, 辅助切除术和 (或) 化疗。放射治疗是治疗宫颈癌的主要方法, 但迄今为止疗效仍不满意, 宫颈原位癌及 I B1 期患者 5 年生存率为 90%~100%, 但 I B2 期及 I B2 期以上患者 5 年生存率则急剧下降, 仅为 50% 左右<sup>[1]</sup>。如果能在放射治疗前预测肿瘤的辐

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30672046)

作者单位: 1. 100029, 北京中日友好医院临床医学研究所生化分子生物学研究室 (李红艳, 陈志华); 2. 100029, 北京中日友好医院妇产科 贺

通讯作者: 陈志华 (E-mail: chzhhua@sina.com)

射敏感性, 识别对射线抗拒的高危病例, 采用非常规治疗, 如超分割放疗、联合化疗、使用乏氧增敏剂和高传能线密度射线照射等, 制定个体化治疗方案, 则有可能提高疗效; 同样, 区分出对射线敏感仅需放疗的患者, 则可避免联合化疗对机体的损害。

宫颈癌的辐射敏感性与肿瘤组织内含氧量、细胞增殖状况等因素有关。近年来有关放射导致DNA损伤、细胞凋亡、细胞周期调控相关分子机制的研究表明, 基因表达水平不同的肿瘤细胞对射线的敏感性也不同, 根据宫颈癌细胞基因表达水平预测其辐射敏感性的研究正逐步受到重视。与宫颈癌辐射敏感性预测有关的基因主要有细胞增殖、凋亡相关基因和肿瘤细胞乏氧相关基因等。

## 1 细胞增殖、凋亡基因

### 1.1 bcl-2 基因和 bax 基因

bcl-2 基因家族是一类调节凋亡的关键基因, 包括正负调节的两组基因, 即凋亡加速基因(bax, bak, bcl-Xs)和凋亡抑制基因(bcl-2, bcl-XL, mcl-1)。bcl-2 和 bax 基因是其中重要的一对正负调节基因, 其相应的 Bcl-2 和 Bax 蛋白可形成同源和(或)异源二聚体。正常细胞中同源二聚体 Bcl-2 /Bcl-2 或异源二聚体 Bcl-2 /Bax 占优势, 细胞不发生凋亡; 当细胞受到某些因素影响导致 bax 基因过量表达时, Bax/Bax 蛋白同源二聚体增加, 细胞发生凋亡。

Mukherjee 等<sup>[2]</sup>分析 78 例 II A 和 II B 期宫颈癌患者, 治疗前取肿瘤组织活检进行免疫组化检测, 放疗 4~6 周后手术切除肿瘤, 结果表明, 放疗敏感组中, Bcl-2 蛋白表达均为阴性, Bax 蛋白阳性表达率则高达 75%; 放疗抗拒组中, Bcl-2 蛋白阳性表达率为 15%, 而 Bax 蛋白阳性表达率仅为 19%, 统计学分析表明, Bax 蛋白阳性表达与放疗敏感性密切相关, 而 Bcl-2 蛋白表达则与放疗抗拒相关。Wootipoom 等<sup>[3]</sup>报道, 174 例 I B~IV A 期宫颈癌患者, 放疗前免疫组化结果显示 Bcl-2 和 Bax 蛋白总表达率分别为 25.9%和68.4%, 放疗后显示, Bax 蛋白高表达者对放疗敏感, 疗效好, 生存率高; 而 Bcl-2 蛋白高表达者对放疗敏感性差, 生存率低; 联合分析 Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达表明, Bax<sup>+</sup>/Bcl-2<sup>-</sup>患者的预后明显好于 Bax<sup>+</sup>/Bcl-2<sup>+</sup>的患者。

Arafat 等<sup>[4]</sup>报道, 以腺病毒介导 bax 基因转染卵巢癌细胞辐射敏感性明显增强, 其机制为诱导细

胞凋亡和坏死。bax 基因的表达和宫颈癌辐射敏感性密切相关, 因此 bax 基因有可能成为提高宫颈癌治疗疗效的基因治疗的逻辑靶点。

### 1.2 p53、p21 基因和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)基因

p53 基因为抑癌基因, 具有参与细胞增殖、分化和凋亡调控; 促进损伤的 DNA 修复及调节基因稳定性等多项功能<sup>[2]</sup>。p21/<sup>WAF1/CIP1</sup> 简称 p21 基因, 是 p53 下游的抑癌基因, 它通过作用于周期蛋白-周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-CDK) 复合物和 PCNA 引起肿瘤细胞生长抑制及调控细胞凋亡<sup>[5]</sup>。野生型 p53 基因可以在转录水平上调节 p21 基因的表达, p21 基因除通过 p53 基因依赖型途径外, 还可以通过非 p53 基因依赖型途径调节细胞的生长。

Mukherjee 等<sup>[2]</sup>发现, 宫颈癌放疗抗拒组中突变型 P53 蛋白的表达率为 34%, 而放疗敏感组中未有突变型 P53 蛋白的表达, 说明突变型 P53 蛋白的表达可能与放疗抗拒相关。Suzuki 等<sup>[6]</sup>对 53 例宫颈癌患者 P53 蛋白的表达与辐射敏感性的关系进行研究, 得到了相同的结果: 突变型 P53 蛋白表达阴性的患者放疗后 5 年生存率为 62%; 而表达突变型 P53 蛋白的患者 5 年生存率仅为 30%。Ishikawa 等<sup>[7]</sup>观察 52 例 III B 期宫颈癌患者, 结果 p53 基因突变占 26.9%, 表达突变型 P53 蛋白的患者局部复发率为 50%, 而表达野生型 P53 蛋白的患者局部控制率为 80%。可见, p53 基因突变明显降低宫颈癌放疗后无复发存活率和局部控制率, 因此 p53 基因也可能成为宫颈癌基因治疗的逻辑靶点。

高危人乳头状瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 感染和宫颈癌的发生、发展密切相关, 其表达的癌蛋白 E6 和 E7 可与 P53 蛋白结合干扰其功能。Abdulkarim 等<sup>[8]</sup>以抗病毒剂 Cidofovir (西多福韦) 处理 HPV 阳性的宫颈癌细胞 Me180, 发现可在转录水平抑制 E6 和 E7 的表达, 同时使野生型 P53 蛋白表达增加 10 倍, P21 蛋白表达增加 7 倍; 以克隆形成实验分析, 经 Cidofovir 处理的 Me180 细胞对射线的敏感性明显增强, 说明野生型 P53 蛋白和 P21 蛋白的高表达可能与细胞辐射敏感性增强有关。苏景伟等<sup>[9]</sup>分析 30 例 II B~IV A 的宫颈癌患者, 发现基因突变 p53<sup>-</sup>/p21<sup>+</sup>与基因突变 p53<sup>+</sup>/p21<sup>-</sup>患者相比对射线更为敏感, 提示联合检测 p53 和 p21 基因可能有助于提高预测宫颈癌辐射敏感性的

准确性。王建东等<sup>[10]</sup>收集了 56 例 II B 和 III B 期放疗后复发的患者, 将其与 56 例同期放疗后无瘤生存患者进行对比分析, 发现复发患者 PCNA 蛋白高表达率明显高于对照组, 说明 PCNA 蛋白的高表达可能与放射抗拒相关。

### 1.3 表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 基因家族

人 EGFR 家族由四个不同的受体酪氨酸激酶组成, 分别为 EGFR、HER2、HER3、HER4, 它们参与激活一系列复杂的细胞信号转导途径, 在正常组织中调控细胞的生长、分裂、分化等重要生理过程, 在其发生异常的情况下可引起癌变, 许多恶性肿瘤中出现一种或数种 EGFR 家族受体过表达和(或)突变<sup>[11]</sup>。

Cho 等<sup>[12]</sup>观察 84 例 II B 期放疗、化疗的宫颈癌患者术前 EGFR 蛋白的表达情况, 其总表达率为 26.6%, 统计学分析表明, EGFR 蛋白表达增加与不良预后密切相关, 说明 EGFR 可能是预测放射敏感性的指标之一。Niibe 等<sup>[13]</sup>对 21 例 III B 期合并腹主动脉旁淋巴结转移的宫颈癌患者进行了 c-erbB-2/HER2 蛋白表达情况的分析, 随后进行放射治疗, 结果: 患者 c-erbB-2/HER2 蛋白总表达率为 43%, c-erbB-2/HER2 蛋白表达阴性的患者 5 年生存率为 52%, 表达阳性的患者 5 年生存率仅为 28%, 表明 c-erbB-2/HER2 蛋白的高表达与放射抗拒有关。

## 2 与宫颈癌放射敏感性相关的乏氧基因

缺氧诱导因子-1 ( hypoxia inducible factor 1, HIF-1) 是调节无氧糖代谢、氧运输、新生血管形成等多个靶基因的转录因子, 它可使肿瘤细胞在缺氧的环境中存活与生长, 肿瘤的缺氧状态与 HIF-1 的表达水平相关<sup>[13]</sup>。碳酸酐酶-9(carbonic anhydrase-9, CA-IX) 和葡萄糖转运子-1 (glucose transporter, GLUT-1) 是受 HIF-1 调节的蛋白, HIF-1 通过调节 GLUT-1 和多种糖酵解酶类基因的表达, 提高肿瘤组织糖转运和糖酵解能力, 维持肿瘤细胞能量代谢, 使肿瘤细胞适应缺血、缺氧、缺乏营养的微环境。

Bachtiary 等<sup>[13]</sup>研究了接受放疗前 67 例 I B~III B 期的宫颈癌患者 HIF-1 蛋白的表达情况, HIF-1 蛋白表达量较低的患者为 23.9%, 中、高强度 HIF-1 蛋白表达的患者为 47.8%, 后者对放疗仅表现出部

分反应, 且其存活率下降, 说明 HIF-1 表达量与肿瘤的放射抗拒呈正相关。Ishikawa 等<sup>[14]</sup>分析了接受放疗的 38 例 III B 期宫颈癌患者 HIF-1 的表达情况, HIF-1 总表达率为 45%, 统计学分析显示, 与 HIF-1 低表达患者相比, HIF-1 高表达患者的肿瘤复发率高且复发时间更早。以上结果说明, HIF-1 高表达导致的乏氧状态是影响宫颈癌放射敏感性的一个重要因素之一。Vordermark 等<sup>[15]</sup>研究了 CA-IX 和 GLUT-1 的表达与肿瘤乏氧水平的关系, 结果显示, 缺氧严重者 CA-IX 表达水平高, 统计学分析表明, CA-IX 是影响患者放疗后总生存率和无转移生存率的独立重要因素, CA-IX 在乏氧的宫颈癌中表达增加预示着放疗的效果差。GLUT-1 在肿瘤中的表达与 CA-IX 具有一致性<sup>[16]</sup>。

## 3 基因芯片规模分析宫颈癌放射敏感性相关基因

无论是细胞增殖、凋亡基因还是乏氧基因, 其结果均为单个或几个基因与放射敏感性相关的研究。随着基因芯片技术的不断发展, 以基因芯片规模分析宫颈癌放射敏感性相关基因的工作也逐渐开展起来。

Kitahara 等<sup>[17]</sup>报道, 选择 9 例放射敏感和 10 例放射抗拒的宫颈癌患者, 基因芯片共选取 23 040 个基因, 分析两组患者肿瘤细胞基因表达的差异, 结果放射敏感组中 121 个基因的表达明显高于放射抗拒组, 放射抗拒组中 50 个基因的表达明显高于放射敏感组, 统计学分析表明, 其中 62 个基因与肿瘤的放射敏感性关系更为密切, 这些基因包括乏氧相关基因、DNA 修复相关基因和脂肪形成相关基因。该研究组<sup>[18]</sup>还选择了经放疗、热疗治疗的各期宫颈癌患者(8 例治疗敏感, 11 例治疗抗拒), 基因芯片同样选取 23 040 个基因分析肿瘤细胞基因表达的差异, 结果从中筛选出 35 个与肿瘤的放射、热疗治疗敏感性密切相关的基因, 这些基因包括凋亡相关基因、乏氧相关基因和肿瘤转移相关基因。该实验结果也可对肿瘤放射敏感性预测有一定的参考意义。Achary 等<sup>[19]</sup>研究了来源于同一宫颈癌的两组不同放射敏感性细胞基因的表达: 基因芯片选取 5 776 个基因, 结果显示, 放射敏感组 18 个基因表达较放射抗拒组高, 放射抗拒组 52 个基因表达比放射敏感组高。Tewari 等<sup>[20]</sup>则从 12 000 个基因中鉴定出 54 个基因作为宫颈癌放射敏感性的分类标准。

一系列辐射敏感相关基因的整体分析对于预测宫颈癌的辐射敏感性可能比分析单个基因更有意义, 这些基因的进一步深入研究对于基因治疗逆转宫颈癌辐射敏感性也有潜在的意义。

#### 4 问题和展望

目前, 宫颈癌辐射敏感相关基因的研究还处于实验阶段, 有些研究还得到了不同的结果, 例如, Ishikawa 等<sup>[4]</sup>分析 38 例 III B 期的宫颈癌患者, 认为肿瘤细胞 bax 基因和 bcl-2 基因的表达水平与放射治疗的疗效无关; Wootipoom 等<sup>[3]</sup>研究 174 例 I B-IV A 期宫颈癌患者辐射敏感性与 p53 突变型蛋白表达的关系, 认为二者不相关。因此, 宫颈癌辐射敏感相关基因的研究还需扩大样本量, 并加强对新鲜样品的分析, 以确定宫颈癌辐射敏感的关键基因。

相信随着宫颈癌辐射敏感关键基因研究的深入, 结合基因芯片技术的发展, 规模化分析宫颈癌放射敏感相关基因, 同时结合患者其他临床和检验参数预测肿瘤放射敏感性的特异性和敏感性将不断提高, 为提高临床疗效和改善预后提供帮助。

#### 参 考 文 献

- 赵晓利, 李力. 宫颈癌治疗模式进展. 国外医学肿瘤学分册, 2004, 31(5): 380-383.
- Mukherjee G, Freeman A, Moore R, et al. Biologic factor and response to radiotherapy in carcinoma of the cervix. *Int J Gynecol Cancer*, 2001, 11(3): 187-193.
- Wootipoom V, Lekhyananda N, Phunggrassami T, et al. Prognostic significance of Bax, bcl-2, and p53 expressions in cervical squamous cell carcinoma treated by radiotherapy. *Gynecol Oncol*, 2004, 94 (3): 636-642.
- Arafat WO, Gomez-Navarro J, Xiang J, et al. An adenovirus encoding proapoptotic bax induces apoptosis and enhances the radiation effect in human ovarian cancer. *Mol Ther*, 2001, 1(6): 545-554.
- Kokunai T, Urui S, Tomita H, et al. Overcoming of radioresistance in human gliomas by p21<sup>WAF1/CIP1</sup> antisense oligonucleotide. *J Neuro Oncol*, 2001, 51(2): 111-119.
- Suzuki Y, Nakano T, Kato S, et al. Immunohistochemical study of cell cycle-associated proteins in adenocarcinoma of the uterine cervix treated with radiotherapy alone: p53 status has a strong impact on prognosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 60(1): 231-236.
- Ishikawa H, Mitsuhashi N, Sakurai H, et al. The effects of p53 status and h pillomavirus infection on the clinical outcome of patients with stage IIIB cervical carcinoma treated with radiation therapy alone. *Cancer*, 2001, 91(1): 80-89.
- Abdulkarim B, Sabri S, Deutsch E, et al. Antiviral agent cidofovir restores p53 function and enhances the radiosensitivity in HPV-associated cancers. *Oncogene*, 2002, 21(15): 2334-2346.
- 苏景伟, 于世英, 张孟贤, 等. p21<sup>WAF1/CIP1</sup> 与宫颈癌放射敏感性的关系. *中华放射肿瘤学杂志*, 2005, 14(1): 17-18.
- 王建东, 高菊珍, 杨伟志. 增殖细胞核抗原和毛细血管间距与宫颈癌放射敏感性的关系. *中华放射肿瘤学杂志*, 2001, 10(2): 122-125.
- Cho NH, Kim YB, Park TK, et al. P63 and EGFR as prognosis predictor in stage II B radiation treated cervical squamous cell carcinoma. *Gynecol Oncol*, 2003, 91(2): 346-353.
- Niibe Y, Nakano T, Ohno T, et al. Prognostic significance of c-erbB-2/HER2 expression in advanced uterine cervical carcinoma with para-aortic lymph node metastasis treated with radiation therapy. *Int J Gynecol Cancer*, 2003, 13(6): 849-855.
- Bachtiary B, Schindl M, Potter R, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor-1 alpha indicates diminished response to radiotherapy and unfavorable prognosis in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(6): 2234-2240.
- Ishikawa H, Sakurai H, Hasegawa M, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha predicts metastasis-free survival after radiation therapy alone in stage III B cervical squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 60(2): 513-521.
- Vordermark D, Brown JM. Endogenous markers of tumor hypoxia predictors of clinical radiation resistance?. *Strahlenther Onkol*, 2003, 179(12): 801-811.
- Airley RE, Lancaster J, Raleigh JA, et al. GLUT-1 and CA IX as intrinsic markers of hypoxia in carcinoma of the cervix: relationship to pimonidazole binding. *Int J Cancer*, 2003, 104(1): 85-91.
- Kitahara O, Katagiri T, Tsunoda T, et al. Classification of sensitivity or resistance of cervical cancer to ionizing radiation according to expression profiles of 62 genes selected by cDNA microarray analysis. *Neoplasia*, 2002, 4(4): 295-303.
- Harima Y, Togashi A, Horikoshi K, et al. Prediction of outcome of advanced cervical cancer to thermoradiotherapy according to expression profiles of 35 genes selected by cDNA microarray analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 60(1): 237-248.
- Achary MP, Jaggernauth W, Gross E, et al. Cell lines from the same cervical carcinoma but with different radiosensitivities exhibit different cDNA microarray patterns of gene expression. *Cytogenet Cell Genet*, 2000, 91(1-4): 39-43.
- Tewari D, Monk BJ, Al-Ghazi MS, et al. Gene expression profiling of in vitro radiation resistance in cervical carcinoma: a feasibility study. *Gynecol Oncol*, 2005, 99(1): 84-91.