

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.07.049

宫颈癌中 SOCS-1 表达的研究新进展

李菲菲 唐慧子 吴猛猛 蔡小继 韩旭[△]

(哈尔滨医科大学附属第一临床医学院 妇科腔镜科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 每年全球大约有 38 万宫颈癌新发病例, 已成为现今世界女性最常见的妇科恶性肿瘤之一, 高危型人类乳头瘤病毒(HPV-16、18 等)是公认的宫颈癌的致病因素。研究证实 HPV E7 原癌基因的产物 HPV E7 原癌蛋白通过与抑癌蛋白 pRb 结合, 诱导 pRb 的降解, 导致宫颈上皮细胞永生化, 致细胞生长增殖失控及细胞凋亡程序发生异常是 HPV 诱导宫颈癌发生的一个主要机制。细胞因子信号传导抑制蛋白(suppressor of cytokine signaling, SOCS)家族是由细胞产生的, 可通过反馈调节来阻断细胞因子信号转导过程的一类负性调节因子, SOCS-1 可抑制多种细胞因子的信号转导途径, 调控体内多种免疫反应, 现有研究表明 SOCS-1 可通过诱导 E7 蛋白降解来抑制 HPV E7 介导的异常转化。而且 SOCS-1 在癌细胞中表达明显降低, 说明 SOCS-1 可能是抑癌基因, 其失活机制主要是甲基化和杂合性缺失, 所以说 SOCS-1 的甲基化和杂合性缺失对宫颈癌的发生、发展起着至关重要的作用, 因此 SOCS-1 的去甲基化及打破基因沉默可能是一种潜在的治疗宫颈癌的新策略。

关键词: 宫颈癌; SOCS-1; 甲基化; 去甲基化; 细胞因子; HPV E7

中图分类号: R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)07-1383-03

SOCS-1 Expression in Cervical New Progress in Research

LI Fei-fei, TANG Hui-zi, WU Meng-meng, CAI Xiao-ji, HAN Xu[△]

(Gynecology Endoscopy Section, The First Clinical College, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: There are about 380000 new cases of cervical cancer every year, which has become one of the most common female gynecologic malignant tumor in the world today, and the high-risk human papillomavirus (HPV-16, 18) is acknowledged as a causal factor in cervical carcinoma. The study confirmed that HPV proto-oncogene E7 produced HPV E7 oncogene binds to the tumor suppressor protein pRb, and degrades pRb, resulting in cervical epithelial cells metaplasia. The important mechanism of cervical carcinoma is to induce cell proliferation out of control and apoptosis induced by HPV exception. The SOCS family is produced by the cell, and blocks a negative cytokine signal transduction regulators through the feedback regulation. SOCS-1 can inhibit signal transduction pathway of a variety of cytokines, and regulate a variety of immune responses. The current study shows that E7 protein degradation induced by SOCS-1 inhibit the abnormal transformation of the HPV mediated by E7. And SOCS-1 in cancer cells was significantly decreased, indicating that SOCS-1 may be a tumor suppressor gene, whose main mechanism is its inactivation methylation and loss of heterozygosity, so SOCS-1 methylation and loss of heterozygosity plays a vital role on the cervical cancer occurrence, Therefore, the SOCS-1 demethylation and break gene silencing may be a new strategy for the potential treatment of cervical cancer.

Key words: Cervical cancer; SOCS-1; Methylation; Demethylation; Cytokine; HPV E7

Chinese Library Classification(CLC): R737.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)07-1383-03

前言

SOCS 家族是由细胞产生并可反馈性阻断细胞因子信号转导过程的一类负相关调节因子, 包括 CIS 和 SOCS1-7 八个因子^[1]。对多种恶性肿瘤的研究发现 JAK/STAT 通路的持续活化与肿瘤的增殖及凋亡有关^[2]。细胞因子信号转导抑制因子 1 (SOCS-1) 可抑制多种细胞因子的信号转导途径, 主要通过 JAK/STAT 信号通路的负性调节从而对多种细胞因子、激素的表达及作用进行调节, 此外, 研究表明 SOCS-1 可通过诱导 E7 蛋白的降解来抑制 HPV E7 介导的异常转化^[3]。SOCS-1 在宫颈

癌标本中的异常表达水平与肿瘤的发生及发展相关^[4], SOCS-1 在宫颈癌中的作用愈发重要, 本文就宫颈癌中 SOCS-1 表达的研究进展作一综述。

1 SOCS-1 的结构及作用机制

SOCS 家族由细胞产生的, 可反馈性阻断细胞因子信号转导过程的一类负性相关调节因子。SOCS 是仅有几个内含子的很短的基因片段, 故可被快速诱导。SOCS-1 基因定位在 16p12-p13.1, 主要组成包括 N 区(氨基端)、位于中央的 SH2 区和羧基端的 SOCS 盒^[5], SOCS-1 基因通过启动子中的 STAT1、STAT3 和 STAT6 结合位点与相应的 STAT 结合而调节其自身的表达^[4]。SOCS-1 可阻断 IL-6、LIF、OSM、INF- γ 以及 GH 等多种细胞因子的信号转导过程, 调控体内多种免疫反应的激活。

作者简介: 李菲菲(1987-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向: 妇科肿瘤, 电话: 0451-85553784, E-mail: lifeifei0813@163.com

[△]通讯作者: 韩旭, E-mail: hanxu_hyd@163.com

(收稿日期: 2014-08-11 接受日期: 2014-09-07)

多种细胞因子和生长因子均可激活 JAK/STAT 信号通路,从而导致目的基因的转录活化^[24],JAK/STAT 信号通路的持续活化与肿瘤细胞的增殖及凋亡有关^[25]。到目前为止,SOCS 家族对 JAK/STAT 信号通路的抑制作用的研究较为明确,细胞因子通过 JAK/STAT 通路诱导 SOCS 蛋白表达,SOCS 蛋白又反馈性地抑制细胞因子介导的 JAK/STAT 通路^[25]。SOCS 对 JAK/STAT 通路的负反馈调节作用机制主要包括利用其位于 SH2 结构域临近的激酶抑制区(kinase inhibitory region, KIR)与 JAK 活化环结构的相似性来竞争 JAK 底物与 JAK 结合^[5],其次 SH2 结构域与细胞因子受体位于细胞质区的磷酸化 Tyr 位点结合阻断了 STAT 的活化,进而阻断了细胞因子的信号转导通路^[5]。有研究表明,SOCS 的表达缺失和 STAT 的高表达及高磷酸化与肿瘤的发生、发展、浸润和转移密切相关^[6,7]。

2 SOCS-1 与细胞因子的关系

研究表明,活化的 STAT3 能够诱导 M1 细胞产生 SOCS-1 基因,在 M1 细胞中 SOCS-1 基因的产物 SOCS-1 蛋白通过抑制 IL-6 信号转导子 gp130 和 STAT3 介导的酪氨酸激酶磷酸化,从而诱导 M1 细胞的异常分化和凋亡^[10]。此外,它还抑制 IFN- γ 、IL-2、IL-3 以及 GH 等细胞因子的信号转导^[11]。由 IFN- γ 受体转导的 SOCS-1 基因产物是细胞质内重要的负性细胞因子信号转导因子,SOCS-1 结构中的 Src 同源区 2 通过靶向结合磷酸酪氨酸残基,阻断多种细胞因子受体的表达^[12]。Schuringa, Schaaf S 等^[8]研究发现,在 N tera-2/D1 EC 细胞中 SOCS-1 抑制白血病抑制因子(LIF)的信号转导途径,并持续性高表达。SOCS 蛋白在体内的异常表达可阻断增强因子的作用,在调节细胞因子的效应和调控细胞分化方面起重要作用^[9],与自身免疫以及肿瘤发生、发展紧密相关。

3 宫颈癌与 SOCS-1 表达的关系

3.1 SOCS-1 与 HPV E7 的关系

人类乳头状瘤病毒(HPV)是一种通过感染粘膜和皮肤上皮细胞从而诱发宫颈癌的小双链 DNA 病毒。HPV E7 原癌基因是 HPV 诱发宫颈癌的主要机制之一,IFN- γ 是 SOCS-1 的一个有力的诱导因子,Woodworth 及 Song and Shuai 研究表明^[13,14]干扰素(IFN)- γ 不仅能诱导 HPV E7 的转录抑制,还能诱导 E7 蛋白的降解,从而抑制 HPV 感染的细胞的增殖以及 HPV E7 的表达。除此之外,SOCS-1 包含 SOCS 盒,能够招募泛素转移分子与细胞因子信号转导抑制因子的相互作用。Reinstein 等^[15]研究报道 E7 在宫颈癌细胞中因受泛素-蛋白酶体途径的调节而短暂存在。免疫共沉淀实验结果显示,SOCS-1 的功能是作为 E7 的泛素连接酶。通过一个 SOCS-1 盒直接与 E7 分子相互作用来促进 E7 的泛素化和降解。在目前的研究发现,过度表达的 SOCS-1 上调 Rb 的水平,而 SOCS-1 基因丢失导致 Rb 的进一步减少。Munger and Howley 研究表明^[16,17]HPV E7 原癌基因与抑癌蛋白 pRb 蛋白结合,诱导后者的降解,E7 诱导下调 pRb 蛋白,导致细胞生长增殖失控及细胞凋亡异常,与肿瘤的发生、发展密切相关。SOCS-1 过度表达导致 E7 蛋白水平的降低和 pRb 的水平增加,很可能 SOCS-1 的过量表达可以促进的 E7 的泛素化和降解,从而抑制由 E7 介导的细胞增殖和致瘤性,在细胞水平的研究进一步证实,被 E7 感染的 SOCS-1 缺陷的成纤维

细胞中 E7 蛋白水平增高和 Rb 蛋白表达降低^[18]。因此 SOCS-1 对调节 E7 蛋白的水平及其转化潜力起着重要的作用,并且可能是一个新的治疗 HPV 介导的肿瘤的工具。

3.2 SOCS-1 的超甲基化、去甲基化与宫颈癌的关系

肿瘤的发生是多基因遗传和表观遗传相互参与、共同作用的结果。人类基因组主要含有两类遗传学信息:表观遗传学信息、传统意义的遗传学信息^[19]。在人类 DNA 中只有紧邻鸟嘌呤 5' 的胞嘧啶(即 CpG 二核苷酸位点中的 C),涵盖了聚集成簇的 CpG 岛和分布于基因组中的 CpG 位点才能发生甲基化,是一种重要的表观遗传学修饰作用。DNA 的甲基化过程是由 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)提供甲基,通过 DNA 甲基转移酶的作用,把甲基基团转移到胞嘧啶和鸟嘌呤(CpG)二核苷酸的胞嘧啶的 5 位碳原子上并与其 3' 端的鸟嘌呤形成 mCpG,并在 DNA 双链上对称出现。DNA 的异常甲基化主要包括 3 种类型^[20]:高甲基化、低甲基化(或去甲基化)和甲基化酶水平增高。高甲基化可抑制基因转录,抑癌基因失活多见于发生肿瘤或癌前病变时^[21]。高甲基化是抑癌基因失活的重要途径,在肿瘤发生、发展中最常见。甲基化是 DNA 表观遗传学修饰的稳定形式,异常甲基化一旦出现,就会在细胞中存在,并且随着癌变的发展有增强的趋势^[22]。在对甲基化进行深入研究的过程中,发现基因 CpG 岛的甲基化密度是一个动态增加的过程,当其增加到一定阈值时就会导致该基因蛋白表达的完全缺失。研究证实,SOCS 蛋白家族的超甲基化可导致其转录水平的沉默,其中 SOCS-1 基因的沉默可导致 JAK/STAT 信号通路的持续性活化及其下游基因大量表达,从而导致了癌基因或生长相关基因的异常表达^[23],因此 SOCS-1 基因的沉默在肿瘤的发展过程中发挥了重要作用。已有研究表明,SOCS-1 超甲基化以及 SOCS-1 表达减少在胃癌组织中和淋巴结转移以及肿瘤的分期有关^[24],这说明 SOCS-1 的缺失可能参与淋巴结转移和肿瘤的进展。QIN Wei 等^[25]对经典型慢性骨髓增殖性肿瘤(myelo-proliferative neoplasms, MPNs)患者的骨髓标本通过甲基化特异性 PCR 法检测其中 SOCS-1 基因发生超甲基化及去甲基化的情况。实验证实:SOCS-1 基因超甲基化存在于 MPNs 标本中,CpG 岛的超甲基化导致其基因表达水平降低,去甲基化后其基因表达水平升高。现研究证实,在多种血液系统肿瘤[如慢性粒细胞白血病和急性髓性白血病]以及骨髓增生异常综合征中都存在 SOCS-1 超甲基化,从而导致其基因表达水平降低或完全沉默。Jost 等研究表明,MPNs 的治疗与 SOCS-1 的超甲基化有相关性^[23]。Hookham 等对 MPNs 患者的进一步研究证实,分子修复的治疗方法可使 SOCS-1 去甲基化^[18],恢复其正常转录通路,从而恢复其对 JAK/STAT 信号通路的抑制作用。提示 SOCS-1 基因超甲基化可能和癌症的发展有关,去甲基化可能是一种潜在的治疗癌症的新策略。

Sobti RC 等^[26]对 120 例新鲜手术切除宫颈组织标本的 SOCS-1 基因的启动子甲基化程度和表达模式利用 RT-PCR、免疫组化和甲基化特异性 PCR(MSP)方法进行了评估,正常宫颈组织作为对照组,与正常宫颈组织中 SOCS-1 的表达相比,65% 的肿瘤组织中不表达或表达降低。61% 的子宫颈癌肿瘤组织中发现甲基化异常的 SOCS-1 启动子。SOCS-1 的表达和甲基化明显与疾病的严重程度有关联 ($P < 0.01$),第一次证明了 SOCS-1 基因的甲基化和可能与 HPV 感染的协同作用导致的

SOCS-1 转录失活在宫颈癌组织中发挥了重要作用。SOCS-1 通过诱导 E7 蛋白降解来抑制 HPV E7 介导的转化,SOCS-1 基因的超甲基化和沉默减少了对 HPV E7 的抑制,可能是宫颈癌发生、发展的一个重要原因,所以 SOCS-1 的定量检测可能会成为宫颈癌的预防以及早期发现的一个新的方法,同时,SOCS-1 去甲基化以提高 SOCS-1 的表达水平的研究和应用可能是防治宫颈癌复发和转移的新策略。

4 结语与展望

SOCS 蛋白家族对信号转导途径具有复杂的调控机制,尤其是对 JAK/STAT 信号通路的负调控作用已得到广泛认可。大量研究证实,SOCS-1 基因在多种器官的肿瘤中存在广泛的甲基化及表达明显降低,尤其在消化道肿瘤中,表明 SOCS-1 可能是抑癌基因。多种系统肿瘤的研究中都有 SOCS-1 基因沉默现象,人们对 SOCS-1 进行了深入的研究,取得了显著的进展。但是仍有一些问题,如:SOCS-1 基因沉默发生于肿瘤何期?SOCS-1 的甲基化终究是通过怎样的途径导致肿瘤发生?怎样实现 SOCS-1 的去甲基化?SOCS-1 与临床病理指标有着怎样的关系?因此,进一步探讨这些问题对宫颈癌乃至其他恶性肿瘤的早期诊断和防治复发和转移都有十分重要的意义。

参考文献(References)

- [1] Franceschi S. The IARC commitment to cancer prevention: the example of papilloma virus and cervical cancer [J]. Recent Result Cancer Res, 2005, 166: 277-297
- [2] Division of Molecular and Cellular Immunology, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, 2006, 812-8582
- [3] Naka T, Narazaki M, Hirata M, et al. Structure and function of a new STAT induced STAT inhibitor [J]. Nature, 1997, 387: 924-929
- [4] Yandava CN, Pillari A, Drazen JM. Radiation hybrid and cytogenetic mapping of SOCS1 and SOCS2 to chromosomes 16p13 and 12q, respectively [J]. Genomics, 1999, 61: 108-111
- [5] Wailboci L W, Ahmed C M, Mujtaba M G, et al. Both the suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS-1) kinase inhibitory region and SOCS-1 mimetic bind to JAK2 autophosphorylation site: implications for the development of a SOCS-1 antagonist [J]. J Immunol, 2007, 178 (8): 5058-5068
- [6] 应明真, 陈真, 王梅, 等. STAT3 与 SOCS3 在乳腺癌组织中的表达及生物学行为相关性分析 [J]. 肿瘤, 2007, 27(4): 298-302
Ying Ming-zhen, Chen Zhen, Wang Mei, et al. STAT3 and SOCS3 expression in breast cancer tissues and biological behavior analysis [J]. tumor, 2007, 27(4): 298-302
- [7] Gringras S, Parganas E, de Pauw A, et al. Role of suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) in the regulation of interleukin-like receptor signaling [J]. J Biol Chem, 2004, 279: 54702-54707
- [8] Schuringa JJ, van-der-Schaaf S, Vellenga E, et al. LIF-induced STAT3 signaling in murine versus human embryonal carcinoma (EC) cells [J]. Exp Cell Res, 2002, 274: 119-129
- [9] Mosteck i J, Showalter BM, Rothman PB. Early growth response-1 regulates lipopolysaccharide-induced suppressor of cytokine signaling-1 transcription [J]. J Biol Chem, 2005, 280: 2596-2605
- [10] Endo TA, Masuhara M, Yokouchi M, et al. A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases [J]. Nature, 1997, 387 (6636): 921-924
- [11] Masuhara M, Sakamoto H, Matsumoto A, et al. Cloning and characterization of novel CIS family genes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 239: 439-446
- [12] Naka T, Narazaki M, Hirata M, et al. Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor [J]. Nature, 1997, 387(6636): 924-929
- [13] Woodworth CD, Licht U, Simpson S, Evans CH and DiPaolo JA. (1992) [J]. Cancer Res, 1998, 52: 456-463
- [14] Song MM and Shuai K. (1998). J. Biol. Chem., 2000, 273: 35056-35062
- [15] Reinstein E, Scheffner M, Oren M, Ciechanover A and Schwartz A. (2000) [J]. Oncogene, 2002, 19: 5944-5950
- [16] Munger K, Basile JR, Duensing S, Eichten A, Gonzalez SL, Grace M and Zaczyn VL. (2001). Oncogene, 2004, 7888-7898
- [17] Munger K and Howley PM. (2002). Virus Res, 2005, 89: 213-228
- [18] Hookham M B, Elliott J, Suessmuth Y, et al. The myeloproliferative disorder-associated JAK2 V617F mutant escapes negative regulation by suppressor of cytokine signaling 3 [J]. Blood, 2007, 109 (11): 4924-4929
- [19] Ushijima T, Okochi-Takada E. Aberrant methylations in cancer cells: where do they come from? [J]. Cancer Sci, 2005, 96(4): 206-211
- [20] 薛京伦. 表观遗传学——原理技术与实践 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 61
Xue Jing-lun, Epigenetics—principles, techniques and practice [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2006: 61
- [21] 符刚. 胃癌危险因素筛选及 SOCS-1 基因甲基化检测 [D]. 南京东南大学公共卫生学院, 2007, 12(3): 269-281
Fu Gang, Risk factors of gastric cancer screening and SOCS-1 Gene methylation detection [D]. Nanjing Southeast University School of Public Health, 2007, 12(3): 269-281
- [22] Bovenzi V, Le NL, Cote S, et al. DNA methylation of retinoic acid receptor beta in breast cancer and possible therapeutic role of 5-aza-2'-deoxycytidine [J]. Anticancer Drugs, 1999, 10(3): 471-476
- [23] Jost E, Doon, Dahl E, et al. Epigenetic alterations complement mutation of JAK2 tyrosine kinase in patients with BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders [J]. Leukemia, 2007, 21(3): 505-510
- [24] Bromberg JF, Wrzeszczynska M H, Devgan G, et al. Stat3 as an oncogene [J]. Cell, 1999, 98(3): 295-303
- [25] Shida D, Kitayama J, Mori K, et al. Transactivation of epidermal growth factor receptor is involved in leptin-induced activation of janus activated kinase 2 and extracellular signal regulated kinase 1/2 in human gastric cancer cells [J]. Cancer Res, 2005, 65(20): 9159-9163
- [26] Espert L, Dusanter-Fourt I, Chelbi-Alix M K. Negative regulation of the JAK/STAT: pathway implication in tumorigenesis [J]. Bull Cancer, 2005, 92(10): 845-857
- [27] Wu S J, Yao M, Chou W C, et al. Clinical implications of SOCS1 methylation in myelodysplastic syndrome [J]. Br J Haematol, 2006, 135(3): 317-323
- [28] Sobti RC, Singh N, Hussain S, et al. Cell Oncol (Dordr). 2011 Dec; 34 (6): 533-43. doi: 10.1007/s13402-011-0056-2. Epub 2011 Sep 21