

- MUC1 enhances invasiveness in pancreatic adenocarcinoma cells[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(11):5201.
- [8] Hattrup CL, Fernandez-Rodriguez J, Schroeder JA, et al. MUC1 can interact with adenomatous polyposis coli in breast cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 316(2):364.
- [9] Huang L, Chen D, Liu D, et al. MUC1 oncoprotein blocks glycogen synthase kinase 3 $\beta$ -mediated phosphorylation and degradation of beta-catenin[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(22):10413.
- [10] Al Masri A, Gendler SJ. MUC1 affects c-Src signaling in PyV MT-induced mammary tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2005, 24(38):5799.
- [11] Mukherjee P, Tindler TL, Basu GD, et al. MUC1 (CD227) interacts with lck tyrosine kinase in Jurkat lymphoma cells and normal T cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2005, 77(1):90.
- [12] Yuan Z, Wong S, Borrelli A, et al. Down-regulation of MUC1 in cancer cells inhibits cell migration by promoting E-cadherin/catenin complex formation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362(3):740.
- [13] Thirkill TL, Cao T, Stout M, et al. MUC1 is involved in trophoblast transendothelial migration[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773(6):1007.
- [14] Tarp MA, Clausen H. Mucin-type O-glycosylation and its potential use in drug and vaccine development[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1780(3):546.
- [15] Rong YF, Jin DY, Wu WH, et al. Induction of protective and therapeutic anti-pancreatic cancer immunity using a reconstructed MUC1 DNA vaccine [J]. *BMC Cancer* 2009, 9:191.
- [16] 罗云娇, 刘昆, 刘月波, 等. 多发性骨髓瘤 MUC1-2VNTR 真核表达载体构建及鉴定[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2008, 17(5):334.
- [17] Avichezer D, Taylor-Papadimitriou J, Arnon R. A short synthetic peptide (DTRPAP) induces anti-mucin (MUC-1) antibody, which is reactive with human ovarian and breast cancer cells[J]. *Cancer Biochem Biophys*, 1998, 16(1-2):113.
- [18] Butts C, Murray N, Maksymiuk A. Randomized phase IIB trial of BLP25 liposome vaccine in stage IIIB and IV non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(27):6674.
- [19] Sangha R, Butts C. L-BLP25: a peptide vaccine strategy in non small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(15 Pt 2):S4652.
- [20] Henderson RA, Konitsky WM, Barratt-Boyes SM, et al. Retroviral expression of MUC-1 human tumor antigen with intact repeat structure and capacity to elicit immunity in vivo[J]. *J Immunother*, 1998, 21(4):247.
- [21] Pecher G, Haring A, Kaiser L, et al. Mucin gene (MUC1) transfected dendritic cells as vaccine: results of a phase I/II clinical trial[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2002, 51(11-12):669.
- [22] Fong CL, Mok CL, Hui KM. Intramuscular immunization with plasmid coexpressing tumour antigen and Flt-3L results in potent tumour regression[J]. *Gene Ther*, 2006, 13(3):245.
- [23] Kontani K, Taguchi O, Ozaki Y, et al. Dendritic cell vaccine immunotherapy of cancer targeting MUC1 mucin[J]. *Int J Mol Med*, 2003, 12(4):493.
- [24] Brugger W, Schneider A, Schammann T, et al. Dendritic cell-based vaccines in patients with hematological malignancies[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 938(3):359.
- [25] Loveland BE, Zhao A, White S, et al. Mannan-MUC1-Pulsed dendritic cell immunotherapy: a phase I trial in patients with adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(3 Pt 1):869.
- [26] Danielczyk A, Stahn R, Faulstich D, et al. PankoMab: a potent new generation anti-tumour MUC1 antibody[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2006, 55(11):1337.

(收稿日期:2009-09-18 修回日期:2009-11-09)

· 综 述 ·

## 生肌调节因子在儿童横纹肌肉瘤诊断中的研究进展\*

马玉虹 综述, 王 珊<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属儿童医院肿瘤外科 400014)

关键词: 生肌调节因子; 横纹肌肉瘤; 儿童

中图分类号: R738.7; R730.43

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)10-1290-03

横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma, RMS)为常见的软组织肿瘤之一,年龄40岁以上者罕见,是儿童较常见的恶性肿瘤之一,占儿童癌症第7~8位,也是0~20岁儿童及青少年期软组织肉瘤中最常见的类型,约占50%<sup>[1]</sup>;其发病部位、病理类型与年龄有关<sup>[2]</sup>;而决定其预后的主要因素包括肿瘤部位、病理分级和大小<sup>[3]</sup>。5年生生存率较低<sup>[4]</sup>。

RMS来源于横纹肌的间充质细胞,由几乎不表现任何细胞分化证据的原始细胞组成,也可包含具有成熟骨骼肌特征的高度分化的细胞。根据肿瘤组织学和遗传学特点,RMS组织学分类包括胚胎型横纹肌肉瘤[embryonal rhabdomyosarcoma, ERMS]占有RMS的80%,梭形细胞葡萄状变异型]和腺泡型横纹肌肉瘤[alveolar rhabdomyosarcoma, ARMS]占

\* 基金项目:重庆医科大学校级重点课题(XBZD200708)。 <sup>△</sup> 通讯作者。

15%~20%],以及一种罕见的成体变异多形性横纹肌肉瘤(pleomorphic rhabdomyosarcoma, PRMS) [5]。

RMS 组织学诊断基于光镜下识别横纹肌母细胞,尤其带横纹者。然而,该肿瘤形态学上具有多变性,常表现为分化不良的小圆细胞,缺乏明显的横纹肌母细胞,从而难以与其他儿童期小圆细胞瘤相鉴别。

自 20 世纪 80 年代起,人们应用肌蛋白标记进行免疫组织化学染色来辅助诊断,包括 myoglobin、Actin、Myosin、desmin 等有助于对 RMS 的鉴别诊断。但是,这些标记物灵敏度和特异性较低,尤其对于低分化 RMS 的诊断结果难以令人满意,促使人们继续寻找最佳的横纹肌性标记。从理论上讲,生肌调节因子(myogenic regulatory factors, MRFs)的表达应大于早于结构蛋白 myoglobin、Act、Myosin、desmin 的表达。因此将其作为 RMS 诊断的标记对研究者具有更强的吸引力。

### 1 MRFs 在横纹肌发育过程中起重要作用

MRFs 是一族核磷酸蛋白,在结构上表现出一些共性:如均一碱性氨基酸富含区及紧邻后的螺旋-环-螺旋结构,故属碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)家庭成员,碱性区与特异的 DNA 识别及结合有关,并司转录激活作用;HLH 区则负责与广泛表达的 E2A 基因产物 E12、E47 等形成异源二聚体 [6]。

骨骼肌的发育是一个十分复杂的过程。首先,多能干细胞定向为单核肌母细胞,然后融合形成肌小管,成熟后形成横纹肌。肌分化的过程由参与控制肌特异性基因表达的反转录因子家族决定。目前在哺乳动物中发现的生肌调节因子成员有 4 个:MyoD、myogenin、Myf5 和 MRF4。其中 MRF4 因种属不同又可称为 Myf6 或 herculin。在肌发生的早期和中期,myf5 和 MyoD 在增殖的成肌细胞中表达,当细胞朝着分化的表型发育时 myogenin 开始表达,最终完成不可逆的分化 [7]。在正常组织中,MRFs 只在骨骼肌表达,尚未发现在心肌和平滑肌有表达。在肿瘤中,早期实验指出 MRFs 在横纹肌肉瘤中均有阳性表达,而在其他的软组织肿瘤中无表达。第一个被发现的是定位于 11p15.4 的是 MyoD1,或称 myf3(1987 年,Davies 等发现),接着是 myogenin 或称 myf4(1989 年,Wright 发现),而后 Braun 等(1989、1990 年)从胎儿肌 cDNA 文库中筛查出与 MyoD1 和 myogenin 相应的人类基因 myf3 和 myf4,以及 myf5 和 myf6 等。

### 2 MRFs 作为 RMS 诊断标记物

1989 年 Scoble 首先将分子生物学方法检测 MyoD1 应用于诊断 RMS,对 13 例新鲜 RMS 组织进行检测,结果显示 MyoD1 全部表达。最近 Kathleen 等的实验结果证明 myogenin 对于 RMS 的诊断也有帮助 [8]。

**2.1 MRFs 的敏感性及其特异性** Li [9] 等用 RT-PCR 方法对 PRMS 及其他软组织肉瘤中 MyoD1、myogenin 的表达进行检测,结果显示:13 例 PRMS 中,MyoD1、myogenin 均呈高水平表达,而在其他软组织肉瘤中则不表达或极低水平表达。他们认为用 RT-PCR 法检测 MyoD1 和 myogenin 转录产物,并结合免疫组织化学方法对 PRMS 的诊断极为有用,且敏感性极高。对于 RMS 的诊断,MRFs 的敏感性及其特异性来说,国内外尚存在不同观点。

**2.1.1 myogenin 特异性较高** Michelagnoli 等 [10] 用 RT-PCR 方法检测横纹肌肉瘤和其他肿瘤中 MyoD1 和 myogenin mRNA 的表达,结果显示:(1)在 RMS 中 myogenin mRNA 的表达率为 88.9%,MyoD1 mRNA 为 100%。(2)其他肿瘤的表达情况为:在 10 例成神经细胞瘤中 myogenin mRNA 均无表达,

MyoD1 mRNA 有 7 例表达。在 10 例 Ewing 肉瘤中 myogenin mRNA 有 2 例表达,MyoD1 mRNA 10 例均表达。其认为 myogenin 特异性较 MyoD1 更强。

**2.1.2 MyoD1 敏感性较高** 早在 20 年前,国外已经有人用 Northern blot 法证明在横纹肌肉瘤中 MyoD1 的敏感性较高,myf5 次之,myogenin 阳性表达率最低。最近,Wang 等 [11] 的实验结果显示,在 5 例 RMS 中,MyoD1 呈弥漫表达,表达率为 100%;而 myogenin 则呈局灶性表达,表达率仅为 50%。

**2.1.3 myogenin、MyoD1 敏感性、特异性均高** Morotti 等 [12] 认为 myogenin、MyoD1 对 RMS 的诊断具有一致的高敏感性和高特异性。

**2.2 MRFs 可作为 RMS 病理分型参考指标** Folpe [13] 提出,虽然 MyoD1 和 myogenin 在横纹肌肉瘤中均表达,但在腺泡型中 MyoD1 和 myogenin 呈弥漫性强表达,而在胚胎型中为极低水平的不均匀表达,用 MyoD1 和 myogenin 可快速、简单、准确地地区分两种类型的横纹肌肉瘤。最近,Morgenstern 等 [14] 的研究结果也显示,myogenin 在腺泡型 RMS 的平均阳性表达率明显高于胚胎型 RMS,认为可以用来区分胚胎型 RMS 和腺泡型 RMS。

### 2.3 MRFs 的表达与横纹肌肉瘤肿瘤细胞分化程度密切相关

马兴等 [15] 对 38 例 RMS 标本用 S-P 免疫组织化学染色法检测 MyoD1,结果显示 MyoD1 总的表达阳性率为 65.8%,在不同的病理分级中,随着 RMS 分化程度的降低,MyoD1 的表达阳性率升高,尤其在 III 级中的表达阳性率显著高于其在 I、II 级中的表达阳性率;同时,MyoD1 的阳性表达的强度也明显增强。说明 MyoD1 具有较高的敏感性。在 RMS 不同的组织病理类型中,MyoD1 的表达阳性率均较高,且相互之间差异无统计学意义。从而在一定程度上表明,MyoD1 对于 RMS 的不同病理分型,都应具有较高的、较为均衡和一致的敏感性。对于分化程度越差的 RMS,MyoD1 的检测信号越强。认为 MyoD1 的检测不仅有益于明确低分化瘤细胞的组织起源,还可为 RMS 与多种恶性小圆细胞肿瘤之间的鉴别诊断提供有利的依据。而 Fine 等 [16] 的研究结果显示,MyoD1、myogenin 蛋白则主要表达在较幼稚的肿瘤细胞中。Mermelstein 等 [17] 的研究结果显示,MyoD1 主要表达在幼稚的未分化细胞,myogenin 则主要表达在多核的肌管样细胞中表达,认为 MyoD1、myogenin 的表达与横纹肌肉瘤中肿瘤细胞的分化程度密切相关,而国内王正等 [18] 的研究结果也与之相符。

**2.4 MRFs 可用于微量组织的儿童小圆细胞瘤鉴别诊断** 信明君等 [19] 应用 Western blotting 方法对 8 例横纹肌肉瘤及 20 例其他儿童实体肿瘤新鲜组织中的 myogenin 蛋白进行检测。结果显示,8 例横纹肌肉瘤均有明显的 myogenin 蛋白印迹,在 1 例肾母细胞瘤中呈假阳性;用 Western blotting 方法可检测到仅 5 μg 组织蛋白中 myogenin 蛋白的表达。说明用 Western blotting 方法检测 myogenin 蛋白对于横纹肌肉瘤的诊断具有极高的灵敏度和较好的特异性,可用于微量组织的儿童小圆细胞瘤鉴别诊断,因而有一定临床应用价值。Bahrami 等 [20] 提出诊断各年龄组和任何部位的原始圆形细胞肿瘤,需要选用一组标记物,包括 MyoD1、myogenin 等,同时结合遗传学研究。

**2.5 MRFs 作为探查 RMS 微小残留病变及微小转移灶的标志物** 20 世纪末,国外已经有实验证明 MyoD1 为明确骨髓和体腔内液有无累及和探查微小残留病变提供了一个灵敏而特异的标志物。Michelagnoli 等 [10] 同样用 RT-PCR 方法检测横纹肌肉瘤骨髓和外周血中的微小病灶中 MyoD1 和 myogenin mRNA 的表达,结果显示在 2 例组织学为阴性的骨髓微小

病灶和 1 例外周血中均检测到 myogenin mRNA;其指出 myogenin mRNA 的检测更利于早期发现骨髓和外周血干细胞中的微小转移病灶。而 Sartori 等<sup>[21]</sup>的实验数据表明骨髓转移病例用 RT-PCR 技术比骨髓镜检能提高阳性率。同时也指出 MyoD1 和 myogenin 转录产物可以作为微小转移病灶的标记物。

综上所述,联合检测 MyoD1、myogenin 及其转录产物能协助 RMS 临床诊断及鉴别诊断,帮助 RMS 分型、分期,并能探查微小残留病变及微小转移病灶,从而对横纹肌肉瘤的诊断及预后评估具有重要的指导意义,并对提高儿童横纹肌肉瘤的诊治率,延长生存期有重要的临床意义。

#### 参考文献:

- [1] 施诚仁. 小儿肿瘤[M]. 北京:北京大学医学出版社, 2007:358.
- [2] 王建文. 小儿横纹肌肉瘤[J]. 实用儿科临床杂志, 2005, 20(1):6.
- [3] Wen HR, Borys K, Guy L, et al. Combined vascular endothelial growth factor receptor/epidermal growth factor receptor blockade with chemotherapy for treatment of local, uterine, and metastatic soft tissue sarcoma[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(17):5466.
- [4] Sbeity S, Abella A, Arcand P, et al. Temporal bone rhabdomyosarcoma in children[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2007, 71(5):807.
- [5] 王朋朋, 杨立业. 横纹肌肉瘤的分子生物学研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(4):514.
- [6] 周国利, 朱奇, 吴玉厚, 等. myogenin 基因的分子生物学综述[J]. 生物技术, 2004, 15(1):90.
- [7] Di Carlo A, De Mori R, Martelli F, et al. Hypoxia inhibits myogenic differentiation through accelerated MyoD degradation[J]. J Biol Chem, 2004, 279(16):16332.
- [8] Montone KT, Barr FG, Zhang PJ, et al. Embryonal and alveolar rhabdomyosarcoma of parameningeal sites in adults: a report of 13 cases[J]. Int J Surg Pathol, 2009, 17: 22.
- [9] Li G, Ogose A, Kawashima H, et al. Cytogenetic and real-time quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction analyses in pleomorphic[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2009, 192(1):1.
- [10] Michelagnoli MP, Burchill SA, Cullinane C, et al. myogenin—a more specific target for RT-PCR detection of rhabdomyosarcoma than MyoD1 [J]. Med Pediatr Oncol, 2003, 40(1):1.
- [11] Wang J, Tu XY, Sheng WQ. Sclerosing Rhabdomyosarcoma[J]. Am J Clin Pathol, 2008, 129:410.
- [12] Morotti RA, Nicol KK, Parham DM, et al. An immunohistochemical algorithm to facilitate diagnosis and subtyping of rhabdomyosarcoma: the Children's Oncology Group experience[J]. Am J Surg Pathol, 2006, 30:962.
- [13] Folpe AL. MyoD1 and myogenin expression in human neoplasia: A review and update[J]. Adv Anat Pathol, 2002, 9(3):198.
- [14] Morgenstern DA, Rees H, Sebire NJ, et al. Rhabdomyosarcoma subtyping by immunohistochemical assessment of myogenin: tissue array study and review of the literature[J]. Pathol Oncol Res, 2008, 14(3):233.
- [15] 马兴, 王全平, 王臻, 等. 肌原调节蛋白 MyoD1 在横纹肌肉瘤中的表达[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 1999, 15(3): 213.
- [16] Fine SW, Lisanti MP, Argani P, et al. caveolin-3 is a sensitive and specific marker for rhabdomyosarcoma[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2005, 13(3):231.
- [17] Mermelstein CS, Martins ER, Partilbo DM, et al. Association between the muscle-specific proteins desmin and caveolin-3 in muscle cells[J]. Cell Tissue, 2007, 327(2): 343.
- [18] 王正, 陈建华, 范钦和. 横纹肌肉瘤中小窝蛋白-3 的表达及鉴别诊断意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2008, 24(2):203.
- [19] 信明军, 施诚仁, 李敏. 儿童横纹肌肉瘤中 myogenin 蛋白的检测及其诊断价值[J]. 临床肿瘤学杂志, 2004, 9(2): 126.
- [20] Bahrami A, Gown AM, Baird GS, et al. Aberrant expression of epithelial and neuroendocrine markers in alveolar rhabdomyosarcoma: a potentially serious diagnostic pitfall [J]. Mod Pathol, 2008, 21(7):795.
- [21] Sartori F, Alaggio R, Zanazzo G, et al. Results of a prospective minimal disseminated disease study in human rhabdomyosarcoma using three different molecular markers[J]. Cancer, 2006, 106(8):1766.

(收稿日期:2009-12-20 修回日期:2010-03-09)

• 综 述 •

## 骨髓增生异常综合征的表观遗传治疗

张 勇 综述, 陈洁平 审校

(第三军医大学西南医院血液病中心, 重庆 400038)

关键词:骨髓增生遗传综合征;表观遗传治疗;DNA 去甲基化;组蛋白乙酰化

中图分类号:R551.304

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)10-1292-05

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)是一组起源于造血髓系定向干细胞或多能干细胞的异质性克隆性疾患,主要特征是无效造血和高危演变为急性髓系白血病

(acute myeloid leukemia, AML),目前 WHO 将其归类于髓系造血细胞肿瘤。

表观遗传学(epigenetics)是指非基因序列改变所致基因表