

点,尝试有效进行多个 miRNA 基因操作,并建立进行体内实验的技术方法也是今后研究的重点。

5 展 望

目前,miRNA 的研究还处于理论和基础水平上,迄今所知 miRNA 对 T 细胞发育的调控很可能只是 miRNA 网络中的沧海一粟,而 miRNA 在调控过程中的具体分子作用机制,也有待于进一步探索^[22]。这些 miRNA 的研究将是对 T 细胞发育调控理论的创新,也将为与 T 细胞发育有关的临床疾病提供新的治疗方向。

参考文献:

- [1] Liston A, Linterman M, Lu LF. MicroRNA in the adaptive immune system, in sickness and in health[J]. *J Clin Immunol*, 2010, 30(3): 339-346.
- [2] Koelsch U, Schraven B, Simeoni L, et al. SIT and TRIM determine T cell fate in the thymus[J]. *J Immunol*, 2008, 181(9): 5930-5939.
- [3] Ashton-Rickardt PG. Studying T-cell repertoire selection using fetal thymus organ culture[J]. *Methods Mol Biol*, 2007(380): 171-184.
- [4] Anglicheau D, Muthukumar T, Suthanthiran M. MicroRNAs: small RNAs with big effects[J]. *Transplantation*, 2010, 90(2): 105-112.
- [5] Muljo SA, Ansel KM, Kanellopoulou C, et al. Aberrant T cell differentiation in the absence of Dicer[J]. *J Exp Med*, 2005, 202(2): 261-269.
- [6] Zhou X, Jeker LT, Fife BT, et al. Selective mRNA disruption in T reg cells leads to uncontrolled autoimmunity[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(9): 1983-1991.
- [7] Liston A, Lu LF, O'Carroll D, et al. Dicer-dependent microRNA pathway safeguards regulatory T cell function[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(9): 1993-2004.
- [8] Lu LF, Liston A. MicroRNA in the immune system, microRNA as an immune system[J]. *Immunology*, 2009, 127(3): 291-298.
- [9] Lykken EA, Li QJ. microRNAs at the regulatory frontier: an investigation into how microRNAs impact the development and effector functions of CD4 T cells[J]. *Immunol Res*, 2011, 49(1/3): 87-96.
- [10] Ramkissoon SH, Mainwaring LA, Ogasawara Y, et al. Hema-

topoietic-specific microRNA expression in human cells [J]. *Leuk Res*, 2006, 30(5): 643-647.

- [11] Shivdasani RA. MicroRNAs: regulators of gene expression and cell differentiation[J]. *Blood*, 2006, 108(12): 3646-3653.
- [12] Merkerova M, Vasikova A, Belickova M, et al. MicroRNA expression profiles in umbilical cord blood cell lineages [J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 19(1): 17-26.
- [13] Neilson JR, Zheng GX, Burge CB, et al. Dynamic regulation of miRNA expression in ordered stages of cellular development[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(5): 578-589.
- [14] Li QJ, Chau J, Ebert PJ, et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection[J]. *Cell*, 2007, 129(1): 147-161.
- [15] Tsitsiou E, Lindsay MA. microRNAs and the immune response[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2009, 9(4): 514-520.
- [16] Georgantas RW, Hildreth R, Morisot S, et al. CD34⁺ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(8): 2750-2755.
- [17] Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function[J]. *Science*, 2007, 316(5824): 608-611.
- [18] O'Connell RM, Kahn D, Gibson WS, et al. microRNA-155 promotes autoimmune inflammation by enhancing inflammatory T cell development[J]. *Immunity*, 2010, 33(4): 607-619.
- [19] Merkerova M, Belickova M, Bruchova H. Differential expression of microRNAs in hematopoietic cell lineages[J]. *Eur J Haematol*, 2008, 81(4): 304-310.
- [20] Cobb BS, Hertweck A, Smith J, et al. A role for Dicer in immune regulation[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(11): 2519-2527.
- [21] Pauley KM, Chan EK. MicroRNAs and their emerging roles in immunology[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1143(1): 226-239.
- [22] Baltimore D, Boldin MP, O'Connell RM, et al. MicroRNAs: new regulators of immune cell development and function[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(8): 839-845.

(收稿日期:2011-08-03 修回日期:2011-11-07)

· 综 述 ·

P2X7 受体与宫颈癌相关性的研究进展*

孙 丽 综述, 韩 莉[△] 审校

(三峡大学医学院免疫学教研室, 湖北宜昌 443002)

关键词: P2X7 受体; ATP 门控; 宫颈肿瘤; 分子机制

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2012. 06. 039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)06-0614-03

嘌呤类受体分为腺苷激活的 P1 受体和细胞外核苷酸激活的 P2 受体两大类。根据组织反应类型和激动剂作用的效力顺序 P2 受体又可分为配体门控的离子通道受体(即 P2X 受

体和 G 蛋白偶联受体(即 P2Y 受体)。P2X 受体家族被认为是继烟碱受体家族和谷氨酸受体家族后的第 3 类配体门控离子通道^[1-2]。P2X 受体包括 7 种亚型, 即 P2X1 ~ P2X7^[3]。

Guerrero-Alba 等^[4] P2X 受体家族除 P2X6 亚型之外均可形成有功能的同源和异源三聚体。P2X7 受体自 1998 年被成功克隆以来,广受研究者重视,可发现其参与细胞因子的释放、骨的重塑、炎症反应、神经源性疼痛、胶原沉着、肾的纤维化以及神经胶质-神经元之间的相互作用等,并在白血病、神经系统病变、妇科恶性肿瘤等疾病中发挥着重要的作用。本文主要综述 P2X7 受体与宫颈癌发生、发展的分子机制相关研究。

1 P2X7 受体的结构及分布

P2X7 受体的编码基因位于第 12 号染色体(12q24.31),有 13 个外显子,全长约 50 kbp,其 mRNA 长度约为 3 155 bp;由 595 个氨基酸组成,基本结构:氨基端(N 端)、羧基端(C 端)胞内域、两次跨膜域及保守的富含半胱氨酸的胞外环,其中 N 端的序列高度保守,C 端在 P2X 家族成员中最长(约 240 个氨基酸)^[5],对其功能很重要,缺失了 C 端 14 个氨基酸的变异体不能形成跨膜孔,而第 551~581 位氨基酸缺失则不能在膜上表达^[3]。

正常情况下 P2X7 受体可表达于多种正常的组织细胞,Jursik 等^[6]认为,P2X7 在单核细胞、巨噬细胞和淋巴细胞,胰腺、肝脏、心脏和胸腺中表达较高,而脑组织、肌肉、胎盘、肠道、前列腺和脾脏中表达中等或较低。造血细胞来源的免疫细胞和炎症细胞(如:巨噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞)不仅可表达多种 P2X 受体,同时亦表达 P2Y 受体^[7]。在创伤、炎症、神经病变及肿瘤等疾病发生时,P2X7 受体表达细胞的种类与密度有所不同。

2 P2X7 受体的生物学功能

P2X7 受体的生物学特点:(1)具有高度多态性;(2)胞内 C 端较长,是区别于 P2X 受体家族其他亚型的标志,被称为表面稳定结构域(Surface-stabilization domain),与其他已知蛋白无同源性,对形成膜孔有重要作用,并且是 P2X7 独特功能的分子基础;(3)ATP 激活 P2X7 受体所需的浓度较高,其他 P2X 受体只需微摩尔级的 ATP 就可以引起离子通道打开,而 P2X7 受体需要毫摩尔级的 ATP 才能引起反应^[8];(4)对二价阳离子表现出相对较强的通透性;(5)P2X7 可通过扩展羧基末端的胞质尾区引起质膜渗透障碍,故又被称为细胞毒性受体和(或)凋亡受体^[9]。

P2X7 受体是配体门控的离子通道型受体,ATP 是它的天然配体。与 P2X 受体家族其他成员相似,适当浓度的配体刺激后,P2X7 受体调控非选择钙离子通道,并介导 Na^+ 、 Ca^{2+} 及 K^+ 的通透性^[10]。而该受体又是一种双向功能受体,它依赖于刺激持续时间、强度等因素。当 ATP 刺激打开 P2X7 受体离子通道,在生理条件下介导 Na^+ 、 Ca^{2+} 内流和 K^+ 外流^[11]。当 ATP 持续或高浓度刺激 P2X7 受体,阳离子通道可转变成非选择性质膜孔,各种阳离子均可通过并且分子量较大的有机阳离子亦可通过,引起细胞膜通透性增高,使细胞外本不该通过的物质进入细胞内,而细胞内一些肽类物质的流出,引起细胞内胶体渗透压降低,最终导致细胞溶胞死亡^[9]。

3 P2X7 与宫颈癌

宫颈癌是目前世界上最常见的女性生殖道恶性肿瘤,在女性恶性肿瘤致死率中仅次于乳腺癌。近年来宫颈癌发病率有明显增高及年轻化趋势,严重威胁广大妇女的健康^[12]。

正常宫颈细胞比癌细胞 P2X7 受体表达水平高,并且 Li 等^[13]研究发现,在正常子宫,大多数全长的 P2X7 受体表达在子宫内层、宫颈内层和宫颈阴道部(外宫颈)的上皮组织。

P2X7 受体与配体结合后可通过膜孔形成、增强 Ca^{2+} 内流以及依赖 Ca^{2+} 活化的线粒体途径等机制诱导细胞凋亡。

Feng 等^[14]研究发现在宫颈癌细胞人的 P2X7 受体可自然产生突变体,命名为 P2X7-j。在结构上,P2X7-j 是一种缺乏全长 P2X7 受体胞内羧基末端、第 2 次跨膜结构域及胞外环状结构末端三分之一的剪接体;在功能上,它不能与配体结合、不能形成膜孔,并且用 P2X7 特异激动剂处理后不能引起细胞凋亡,但可以 and 全长的 P2X7 相互作用并形成异寡聚体拮抗 P2X7 的活性。研究发现,在人正常宫颈组织和肿瘤组织裂解物中,P2X7-j 的 mRNA 与蛋白表达水平相似,而全长 P2X7 受体 mRNA 和蛋白表达水平在正常组织中比癌组织中要高,并且癌组织中缺乏大小为 205×10^3 、具有免疫活性的 P2X7 受体,即缺乏有功能的 P2X7 同源三聚体(P2X7)₃。Li 等^[13]研究发现 P2X7 在正常组织与癌组织中表达的差异不限于子宫组织,在其他类型的上皮肿瘤中也有相似的现象,比如在皮肤、乳腺、前列腺组织中也显示相似的趋势。

研究表明,P2X7 受体的特效激动剂 BzATP 能够诱导正常的和癌变的宫颈细胞凋亡,而且这种作用在正常细胞明显强于宫颈癌细胞^[15]。Wang 等^[16]指出,P2X7 受体可以通过线粒体途径介导人子宫颈癌细胞凋亡,而雌激素可以通过封闭钙离子内流而削弱该作用。ATP 通过活化 P2X7 受体引起细胞凋亡的主要途径是钙离子依赖的 Caspase-9 介导的线粒体途径,而子宫颈细胞通过分泌 ATP 至细胞外液进行自我调节细胞质钙离子和细胞凋亡,其中钙离子经 P2X7 受体进入细胞质,通过自分泌-旁分泌的机制调节子宫颈细胞凋亡,这一新的 P2X7 受体调解模式对进一步理解子宫颈细胞生物学及宫颈癌发展非常重要。宫颈癌细胞可能通过下调 P2X7 的 mRNA 逃避生长控制。Wang 等^[15]研究结果显示,P2X7 受体的缺失发生在肿瘤形成早期,因为在轻微的宫颈发育异常中发现已经缺失 P2X7 mRNA 和蛋白的表达。临床标本检查表明 P2X7 受体的 mRNA、蛋白表达水平在非典型增生、子宫内层癌中明显低于正常组织。体外转染 3'UTR-P2X7 报告质粒的 HeLa 细胞也显示 P2X7 受体 mRNA 表达水平低于正常对照组细胞。因此,更好地理解 P2X7 受体的生理学和肿瘤学作用有助于理解子宫颈癌的生长和进展。

4 展 望

宫颈癌细胞表面正常 P2X7 受体减少、突变体增多可能成为肿瘤发生、发展的重要原因。由于 P2X7 受体参与肿瘤细胞生长的调节作用,控制细胞死亡、增殖,可以作为潜在的肿瘤治疗靶点,并为研究抗肿瘤药物提供新思路。有学者认为 P2X7 受体基因能够区分癌、癌前期和正常组织成为首个检测细胞癌变潜力的生物标记。但是 P2X7 受体在宫颈癌细胞中的表达和功能以及在分子与细胞水平探讨 P2X7 受体对宫颈癌细胞生长抑制、细胞凋亡影响的具体机制还有待进一步研究。探讨 P2X7 受体作为抑制肿瘤细胞生长药物靶点的分子机制,有望成为宫颈癌新的分子治疗靶点。

参考文献:

- [1] Jarvis MF, Khakh BS. ATP-gated P2X cation-channels [J]. *Neuropharmacology*, 2009, 56(1): 208-215.
- [2] Pankratov Y, Lalo U, Krishtal OA, et al. P2X receptors and synaptic plasticity [J]. *Neuroscience*, 2009, 158(1): 137-148.

- [3] Khakh BS, North RA. P2X receptors as cell-surface ATP sensors in health and disease[J]. *Nature*, 2006, 442(7102): 527-532.
- [4] Guerrero-Alba R, Valdez-Morales E, Juárez EH, et al. Two suramin binding sites are present in guinea pig but only one in murine native P2X myenteric receptors[J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 626(2/3): 179-185.
- [5] Deli T, Csernoch L. *Pathol Oncol Res. Extracellular ATP and Cancer- An Overview with Special Reference to P2 Purinergic Receptors*[J]. *Pathol Oncol Res*, 2008, 14(3): 219-231.
- [6] Jursik C, Sluyter R, Georgiou JG, et al. A quantitative method for routine measurement of cell surface P2X7 receptor function in leucocyte subsets by two-colour time-resolved flow cytometry[J]. *J Immunol Methods*, 2007, 325(1/2): 67-77.
- [7] Mei L, Du W, Gao W, et al. Purinergic signaling: a novel mechanism in immune surveillance[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31(9): 1149-1153.
- [8] Zhang X, Meng L, He B, et al. The role of P2X7 receptor in ATP-mediated human leukemia cell death; calcium influx-independent[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2009, 41(5): 362-369.
- [9] Donnelly-Roberts DL, Namovic MT, Han P, et al. Mammalian P2X7 receptor pharmacology: comparison of recombinant mouse, rat and human P2X7 receptors[J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 157(7): 1203-1214.
- [10] Khakh BS, Burnstock G, Kennedy C. International union of pharmacology. XXIV. current status of the nomenclature and properties of P2X receptors and their subunits[J]. *Pharmacol Rev*, 2001, 53(1): 107-108.
- [11] Di Virgilio F, Ceruti S, Bramanti P, et al. Purinergic signaling in inflammation of the central nervous system[J]. *Trends Neurosci*, 2009, 32(2): 79-87.
- [12] Lilic V, Lilic G, Filipovic S, et al. Modern treatment of invasive carcinoma of the uterine cervix[J]. *J BUON*, 2009, 14(4): 587-592.
- [13] Li X, Zhou L, Feng YH, et al. The P2X7 receptor: a novel biomarker of uterine epithelial cancers[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15(10): 1906-1913.
- [14] Feng YH, Li X, Wang L, et al. A truncated P2X7 receptor variant (P2X7-j) endogenously expressed in cervical cancer cells antagonizes the full-length P2X7 receptor through hetero-oligomerization[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(25): 17228-172.
- [15] Wang LQ, Feng YH, George GI, et al. Epidermal growth factor facilitates epinephrine inhibition of P2X7-receptor-mediated pore formation and apoptosis: a novel signaling network[J]. *Endocr Soc*, 2005, 146(1): 164-174.
- [16] Wang Q, Wang L, Feng YH, et al. P2X7 receptor-mediated apoptosis of human cervical epithelial cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(5): C1349-1358.

(收稿日期: 2011-04-09 修回日期: 2011-10-22)

(上接第 572 页)

- 2010, 18(6): 650-653.
- [3] Liu CL, Liao SJ, Zeng JS, et al. DL-3n-butylphthalide prevents stroke via improvement of cerebral microvessels in RHRSP[J]. *J Neurol Sci*, 2007, 260(1/2): 106-113.
- [4] Roman GC, Tatemichi TK, Erkinunnti T, et al. Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS AIREN International Workshop[J]. *Neurology*, 1993, 43(2): 250-260.
- [5] 田金洲, 韩明向, 涂晋文, 等. 血管性痴呆的诊断、辨证及疗效判定[J]. *北京中医药大学学报*, 2000, 23(5): 1624-1625.
- [6] 李敬诚, 周华东, 张猛, 等. 重庆市 403 例脑梗死并发血管性痴呆危险因素分析[J]. *重庆医学*, 2007, 36(13): 1233-1235.
- [7] 王玉梅, 商亚珍. 血管性痴呆的研究进展[J]. *承德医学院学报*, 2011, 28(3): 320-322.
- [8] 徐蓓, 赵志刚. 脑血管病治疗药物丁苯酞注射液的药理与临床研究评价[J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(11): 947-950.
- [9] 王宝亮, 钱百成. 丁苯酞软胶囊治疗急性脑梗死 30 例临床疗效观察[J]. *中国当代医药*, 2009, 16(24): 65-66.
- [10] 石红梅. 丁苯酞注射液对脑梗死患者血小板聚集性的影响及临床疗效观察[J]. *药物与临床*, 2010, 7(17): 60-61.
- [11] 黄如训, 李常新. 丁苯酞对实验性动物血栓形成性脑梗死的治疗作用[J]. *中国新药杂志*, 2005, 14(8): 985-988.
- [12] 全凤英, 谭家泽, 王咏龙. 依达拉奉对血管性痴呆大鼠认知功能损害的保护作用[J]. *重庆医学*, 2010, 39(21): 2892-2894.
- [13] 崔玉环, 张朝东, 魏玉磊. 丁苯酞对 A β 25-35 诱导的 PC12 细胞线粒体损伤的保护作用[J]. *中国医科大学学报*, 2010, 39(6): 452-455.
- [14] 侯德仁, 薛俐, 陈坤, 等. 丁苯酞对阿尔茨海默病模型大鼠海马 GFAP 和 VEGF 的影响[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2010, 35(2): 111-115.
- [15] 翟轶华, 刘伯语, 卢宏. 丁基苯酞对血管性痴呆大鼠的保护作用[J]. *中国现代医药杂志*, 2010, 12(11): 9-11.

(收稿日期: 2011-10-19 修回日期: 2011-11-24)