

· 综 述 ·

鼠双微染色体 2 基因对鳞状细胞癌预后评估的研究进展

姜力豪 综述,任庆兰 审校

(重庆医科大学附属第一医院肿瘤科 400016)

关键词:鳞状细胞肿瘤;鼠双微染色体 2;基因;治疗;综述

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.08.048

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)08-0952-03

鼠双微染色体 2(murine double minute 2,MDM2)是 1991 年从一个含有双微体(murine double mimut,MDM)的自发转化的 BALB/3T3DM 细胞中克隆出来的一个高度扩增的基因,其产物 MDM2 蛋白是 p53 的重要负性调节因子,通过 p53 途径、非 p53 依赖途径等多种方式调节细胞异常增殖和凋亡,在肿瘤发生、发展中起重要作用。近年来,在关于多种人类肿瘤与 MDM2 的相关性研究中均显示 MDM2 存在突变、扩增、过表达等,该基因表达和功能的异常与肿瘤的发生密切相关。虽然 MDM2 的检测在临床上受到限制,但在临床工作中 MDM2 作为分子标志对多种肿瘤预后的评估具有重大意义。

1 MDM2 癌基因的生物学功能及作用机制

1.1 依赖 p53 的 MDM2 活性 p53 是一种通过调控细胞周期停滞、细胞凋亡、DNA 修复等过程中的细胞信号传导,抑制细胞增殖,促进细胞凋亡,影响肿瘤发生、发展的肿瘤抑制基因,其功能失活与 MDM2 密切相关。MDM2 是 RING 型泛素蛋白连接酶的重要成员之一,大约 10% 的人类肿瘤存在 MDM2 基因的异常扩增或过表达致 p53 功能失活,是 p53 信号传导途径的重要功能负性调节因子。它可以通过两种途径调节 p53 的功能。(1)直接与 p53 结合,阻碍 p53 蛋白与相关转录因子的相互作用,抑制 p53 的转录因子活性,从而抑制 p53 下游基因的转录。(2)MDM2 能介导与其结合的 p53 蛋白从细胞核内转运至细胞质;MDM2 的 E3 泛素化酶活性能使其结合的 p53 蛋白泛素化,进而被蛋白水解酶降解。同时 MDM2 可以与 p53 形成负反馈调节环,在细胞受损时,激活 p53 及其下游 MDM2 基因,随着 MDM2 水平升高而使 p53 水平下调,从而使 p53 功能失活,促进肿瘤生长。

1.2 非依赖 p53 的 MDM2 活性 除了能够与 p53 结合外,MDM2 还可以和其他细胞蛋白相作用,即具有不依赖 p53 而促进肿瘤生长的作用。p21 是 p53 通路中的下游基因,其编码蛋白可以介导细胞周期阻滞及凋亡增加肿瘤细胞对化疗的敏感性。作为 p21 的负性调节因子,MDM2 可绕过 p53 通路直接作用于 p21,引起蛋白酶体介导的 p21 降解,降低 p21 蛋白的稳定性,导致 p21 蛋白水平明显降低^[1]。MDM2 也可以与 PML 蛋白相作用从而抑制其功能(PML 蛋白是一个广谱的肿瘤生长抑制因子,能够抑制多种肿瘤细胞及癌性转化细胞的生长及致瘤性),促进肿瘤的生长。因此,MDM2 可以通过 p53 途径及非 p53 依赖途径等多种方式在肿瘤的发生、发展中扮演着重要的角色。

2 MDM2 癌基因在鳞癌中的研究进展

MDM2 SNP309(rs2279744;T/G)是 Bond 等^[2]于 2004 年在 MDM2 基因启动子 p2(含有 p53 作用位点的启动子)内发

现一个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP),使转录因子 SP1 的亲合力增强,促进 MDM2 基因转录表达,提高肿瘤细胞内 MDM2 基因蛋白表达水平,进而削弱 p53 途径和非依赖 p53 途径的肿瘤抑制功能,促进多种遗传性、散发性肿瘤的早期发生。故在多种肿瘤中 MDM2 基因存在过表达现象,如肾细胞癌^[3]、胃癌^[4]、肝癌^[5]、膀胱癌^[6]、淋巴瘤^[7]、胶质瘤^[8]等。在 Wo 等^[9]研究显示,GG 基因型发生肿瘤风险显著增高(OR=1.123),GG/GT 基因型发生肿瘤风险也增高(OR=1.028),提示 MDM2 SNP309 可以作为评估肿瘤风险的生物标志物。而 MDM2 在一些鳞癌中过表达现象更加明显,如鼻咽鳞状细胞癌^[10]、喉鳞状细胞癌^[11]、食管鳞状细胞癌^[12]、肺鳞状细胞癌^[13]等。

鳞状细胞癌是对放疗最敏感的肿瘤之一,是所有恶性肿瘤中预后较好的一种,不仅在肿瘤早期时具有手术机会,而且在晚期时也可以选择放、化疗等综合治疗。与其他恶性肿瘤相比,人们对鳞状细胞癌预后的期望值更高,而 MDM2 的研究进展,对指导多种恶性肿瘤特别是鳞状细胞癌的临床治疗及改善预后有着重要的意义。

研究表明,晚期肿瘤患者中 MDM2 蛋白阳性率高于早期肿瘤患者,淋巴结转移者显著高于无淋巴结转移者,低分化型显著高于中高分化型^[14],即在肿瘤转移、浸润中 MDM2 基因过表达更明显。对发生于不同部位的鳞状细胞癌,MDM2 的意义不同,在多数部位是 MDM2 基因过表达越明显,其预后更差,如头颈部的鼻咽鳞状细胞癌^[10]、喉鳞状细胞癌^[11]。但少数部位的肿瘤如早期肺鳞状细胞癌,低水平的 MDM2 表达提示其预后很差^[15]。下面分别介绍 MDM2 对相关部位鳞状细胞癌预后的独特临床意义。

2.1 头颈部鳞状细胞癌 头颈部鳞状细胞癌如鼻咽鳞状细胞癌、喉鳞状细胞癌、口腔鳞状细胞癌等,与 MDM2 基因过表达呈正相关。Vlatkovic 等^[16]1991~2000 年对 198 例头颈部鳞状细胞癌患者经治疗(手术/手术加放疗)后进行随访发现,5 年生幸存者中 MDM2 基因呈较低水平表达,提示 MDM2 基因表达越低,头颈部鳞状细胞癌患者的预后越好。(1)鼻咽鳞状细胞癌。鼻咽鳞状细胞癌是头颈部最常见的鳞癌之一,中国是高发地区。现已证实鼻咽癌的发生、发展与 EB 病毒相关,但近年来关于 MDM2 基因在鼻咽鳞状细胞癌中的表达研究发现,在鼻咽鳞状细胞癌患者中 MDM2 基因也存在过表达现象,在 Xiao 等^[10]对 522 例确诊鼻咽鳞状细胞癌的病例组和 712 例健康对照组的 MDM2 基因表达进行分析,MDM2 SNP309 GG 基

因型的表达在鼻咽鳞状细胞癌患者中表达明显高于正常组 (OR=2.83)。Sousa 等^[17]对 124 例确诊鼻咽鳞状细胞癌的病例组和 712 例健康对照组的 MDM2 基因的表达进行分析,发现在年龄较小者和临床分期较早者中 MDM2 基因过表达的统计学意义更大,提示可以作为年轻人早期的筛查指标之一。因此,MDM2 基因可作为判断鼻咽鳞状细胞癌发生、发展及转归的重要指标。(2)口腔鳞状细胞癌、喉鳞状细胞癌。目前,普遍认为口腔鳞状细胞癌和喉鳞状细胞癌的发生与人乳头状瘤病毒(human papilloma virus, HPV)密切相关,Wang 等^[18]对 320 例病例组(感染 HPV16 的口腔鳞状细胞癌)和 321 例对照组(无瘤的 HPV16 感染者)中 HPV16 与 MDM2 基因表达的相关性研究表明,MDM2 基因在人乳头状瘤病毒 16(HPV16)感染患者中的过表达增加了发生口腔鳞状细胞癌和喉鳞状细胞癌的风险(OR=2.8),而 TT 基因型增高更加明显(OR=5.5)。Hassumi-Fukasawa 等^[11]对 9 例原位癌、27 例无转移及 27 例伴有淋巴结转移的喉鳞状细胞癌进行分析,发现伴有淋巴结转移的喉鳞状细胞癌中 MDM2 基因的表达明显高于前两者,提示 MDM2 可以作为评估喉鳞状细胞癌预后的标志物之一。

2.2 胸腹部鳞状细胞癌 (1)食管鳞状细胞癌。食管鳞状细胞癌的发生和发展虽然涉及多种病因学机制,但癌基因异常可能是食管癌发生、发展的一个重要原因。李灵敏等^[12]应用免疫组织化学技术检测 43 例食管鳞状细胞癌、30 例正常食管黏膜、30 例非典型增生中 MDM2 基因表达的情况,发现正常食管黏膜、非典型增生及食管鳞状细胞癌,MDM2 基因的表达率呈逐渐升高的趋势(0%、26.67%、51.13%),随肿瘤恶性程度的增高其阳性表达率也逐渐增高(20.0%、47.1%、75.0%),且 MDM2 基因在淋巴结转移组中的阳性表达率(12/15,80%)较未转移组中的阳性表达率(10/28,35.7%)高,二者比较差异有统计学意义($\chi^2=7.667, P<0.05$),以上结果提示 MDM2 基因的过表达与食管癌的发生、发展有关,并与肿瘤的分化程度及预后密切相关。Ikeguchi 等^[19]对 148 例食管鳞状细胞癌的患者(经手术/手术加放化疗治疗)进行随访分析,发现 MDM2 蛋白阳性的患者(48 例,占总患者的 32.4%)5 年生存率是 15.3%,MDM2 蛋白阴性的患者(100 例,占总患者的 67.6%)5 年生存率是 38.5%,进一步提示 MDM2 可以作为食管鳞状细胞癌预后差的指标。(2)肺鳞状细胞癌。肺鳞状细胞癌是非小细胞肺癌的一种,其预后相对较好。部分研究表明,在白种人非小细胞肺癌患者中 MDM2 SNP309 GG 型基因提示预后较差^[20],而更多研究则发现,高表达的 p53 结合低水平的 MDM2 基因表达在早期肺癌患者提示其预后更差^[13,20-21]。Higashiyama 等^[13]报道 MDM2 蛋白阳性非小细胞肺癌患者生存率高于 MDM2 蛋白阴性的非小细胞肺癌患者。Ko 等^[21]发现 MDM2 基因的表达是评估非小细胞肺癌预后较好的一个独立的指标,在 MDM2 基因阴性表达的人群中发病风险是 MDM2 基因阳性表达人群的 3.42 倍。最近报道表明,MDM2 SNP309 GG 型基因的非小细胞肺癌患者的平均生存时间(33.0 个月)明显高于 GT/TT 型患者(23.0 个月),差异有统计学意义($P=0.028$),提示 MDM2 SNP309 GG 型基因是预后较好的标志物之一^[22]。(3)宫颈鳞状细胞癌。宫颈鳞状细胞癌的发生率非常高,占宫颈癌的 90%。目前,关于 MDM2 基因

过表达对宫颈鳞状细胞癌预后影响的观点不尽一致。HPV 与宫颈癌的发生密切相关,但相关研究表明,MDM2 基因的表达并不增加 HPV 致宫颈鳞癌的风险性^[23]。Meissner 等^[24]对巴西的 72 例宫颈癌患者(鳞状细胞癌占 92.5%)和 100 例正常对照组中 MDM2 基因的表达水平分析发现,MDM2 基因的表达对宫颈癌的发病无显著影响。而国内多数学者认为 MDM2 基因的表达对判断宫颈癌的预后具有指导作用。王东红等^[25]对 40 例宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasias, CIN)、62 例宫颈鳞状细胞癌和 20 例慢性子宫颈炎的石蜡标本中 MDM2 蛋白的表达进行检测,发现 MDM2 蛋白在宫颈鳞状细胞癌组中的表达高于 CIN 组和慢性子宫颈炎组,差异有统计学意义($P<0.05$);同时在宫颈鳞状细胞癌中,MDM2 蛋白的表达随分级的增加而增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。提示 MDM2 蛋白宫颈鳞状细胞癌的诊断和预后评估有价值。但是,放疗前、后比较 MDM2 蛋白表达水平差异无统计学意义^[26]。MDM2 基因的表达对于宫颈癌的价值尚不统一,需进一步研究。

3 MDM2 基因检测进展

随着对 MDM2 的研究进展,对 MDM2 检测方法也得到发展,标本从病理组织到外周血,方法从免疫组织化学到荧光定量,越来越简易、精确。20 世纪 90 年代末及 2000 年初对 MDM2 的检测多采用免疫组织化学检测方法,其标本多为病理组织,由于受到各种限制,此方法在那个时期主要用于科研。近年报道的 MDM2 检测方法多为全血细胞基因组 DNA 提取联合 PCR-RFLP 方法,少数采用 MGB 探针法和基因测序法,前者自动化程度低,难以质控,后者则检测成本较高,最终难以普及。目前,最新报道的检测方法是煮沸法提取全血细胞中的 DNA 后荧光定量,该方法具有较广泛的适用范围,较好的临床适用性^[27],但还是难以到达临床检测的标准,还需要寻找一种更简便、快捷、低成本的检测方法,使 MDM2 的检测更广泛应用于临床。

4 小 结

MDM2 蛋白作为 p53 的重要负性调节因子,通过 p53 途径、非 p53 依赖途径等多种方式调节细胞增殖和凋亡,在肿瘤特别是鳞状细胞癌的发生、发展中起重要作用。多种鳞状细胞癌如头颈部鳞癌、食管鳞癌、肺鳞状细胞癌和宫颈鳞癌的发生、发展及转归与 MDM2 基因表达密切相关,故 MDM2 可作为鳞癌发生、发展及预后评估的生物标志,对鳞癌的个体化治疗、靶向治疗有重要的临床意义。但目前 MDM2 检测还不够快捷、简易、低廉,不能广泛用于临床,还需进一步研究。

参考文献:

- [1] Zhang Z, Wang H, Prasad G, et al. Radiosensitization by antisense anti-MDM2 mixed-backbone oligonucleotide in in vitro and in vivo human cancer models[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(4):1263-1273.
- [2] Bond GL, Hu W, Bond EE, et al. A single nucleotide polymorphism in the MDM2 promoter attenuates the p53 tumor suppressor pathway and accelerates tumor formation in humans[J]. Cell, 2004, 119(5):591-602.

- [3] Huang CY, Su CT, Chu JS, et al. The polymorphisms of p53 codon 72 and MDM2 SNP309 and renal cell carcinoma risk in a low arsenic exposure area[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 257(3):349-355.
- [4] Zhu Y, Qiu M, Zhou J, et al. Analysis of the p53 transcriptional activity in gastric cancer[J]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 2010, 27(1):60-65.
- [5] Dong D, Gao X, Zhu Z, et al. A 40-bp insertion/deletion polymorphism in the constitutive promoter of MDM2 confers risk for hepatocellular carcinoma in a Chinese population[J]. *Gene*, 2012, 497(1):66-70.
- [6] Shinohara A, Sakano S, Hinoda Y, et al. Association of TP53 and MDM2 polymorphisms with survival in bladder cancer patients treated with chemoradiotherapy[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(12):2376-2382.
- [7] Li HL, Huang XP, Zhou XH, et al. Correlation of seven biological factors(Hsp90a, p53, MDM2, Bcl-2, Bax, Cytochrome C, and Cleaved caspase3) with clinical outcomes of ALK+ anaplastic large-cell lymphoma[J]. *Biomed Environ Sci*, 2011, 24(6):630-641.
- [8] Mehta S, Huillard E, Kesari S, et al. The central nervous system-restricted transcription factor Olig2 opposes p53 responses to genotoxic damage in neural progenitors and malignant glioma[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(3):359-371.
- [9] Wo X, Han D, Sun H, et al. MDM2 SNP309 contributes to tumor susceptibility; a meta-analysis[J]. *J Genet Genomics*, 2011, 38(8):341-350.
- [10] Xiao M, Zhang L, Zhu X, et al. Genetic polymorphisms of MDM2 and TP53 genes are associated with risk of nasopharyngeal carcinoma in a Chinese population[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10:147.
- [11] Hassumi-Fukasawa MK, Miranda-Camargo FA, Guimarães MC, et al. Possible implication of MDM2 as a prognostic marker in invasive laryngeal carcinoma[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2012, 269(7):1795-1804.
- [12] 李灵敏, 刘育艳. p53 和 MDM2 在食管鳞癌中的作用及相关性分析[J]. *山西医科大学学报*, 2005, 36(1):23-24.
- [13] Higashiyama M, Doi O, Kodama K, et al. MDM2 gene amplification and expression in non-small-cell lung cancer; immunohistochemical expression of its protein is a favourable prognostic marker in patients without p53 protein accumulation[J]. *Br J Cancer*, 1997, 75(9):1302-1308.
- [14] 时淑珍, 赵俊军, 赵卫红, 等. FHIT 和 MDM2 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及意义[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2009, 14(3):212-21.
- [15] Wang YC, Lin RK, Tan YH, et al. Wild-type p53 overexpression and its correlation with MDM2 and p14 ARF alterations; an alternative pathway to non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(1):154-164.
- [16] Vlatkovic N, El-Fert A, Devling T, et al. Loss of MTBP expression is associated with reduced survival in a biomarker-defined subset of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Cancer*, 2011, 117(13):2939-2950.
- [17] Sousa H, Pando M, Breda E, et al. Role of the MDM2 SNP309 polymorphism in the initiation and early age of onset of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Mol Carcinog*, 2011, 50(2):73-79.
- [18] Wang Z, Sturgis EM, Zhang Y, et al. Combined p53-related genetic variants together with HPV infection increase oral cancer risk[J]. *Int J Cancer*, 2011, 131(3):251-258.
- [19] Ikeguchi M, Ueda T, Fukuda K, et al. Expression of the murine double minute gene 2 oncoprotein in esophageal squamous cell carcinoma as a novel marker for lack of response to chemoradiotreatment[J]. *Am J Clin Oncol*, 2002, 25(5):454-459.
- [20] Heist RS, Zhou W, Chirieac LR, et al. MDM2 polymorphism, survival, and histology in early-stage non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(16):2243-2247.
- [21] Ko JL, Cheng YW, Chang SL, et al. MDM2 mRNA expression is a favorable prognostic factor in non-small-cell lung cancer[J]. *Int J Cancer*, 2000, 89(3):265-270.
- [22] Dong J, Ren B, Hu Z, et al. MDM2 SNP309 contributes to non-small cell lung cancer survival in Chinese[J]. *Mol Carcinog*, 2011, 50(6):433-438.
- [23] Hu X, Zhang Z, Ma D, et al. TP53, MDM2, NQO1, and susceptibility to cervical cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(3):755-761.
- [24] Meissner RV, Barbosa RN, Fernandes JV, et al. No association between SNP309 promoter polymorphism in the MDM2 and cervical cancer in a study from northeastern Brazil[J]. *Cancer Detect Prev*, 2007, 31(5):371-374.
- [25] 王东红, 孙丽君, 邓卫安, 等. MDM2 蛋白在子宫颈上皮内瘤样病变和子宫颈癌中的表达[J]. *新医学*, 2005, 36(2):73-74.
- [26] Beskow C, Skikuniene J, Holgersson A, et al. Radioresistant cervical cancer shows upregulation of the NHEJ proteins DNA-PKcs, Ku70 and Ku86[J]. *Br J Cancer*, 2009, 101(5):816-821.
- [27] 陈红, 谢丽, 胡文静, 等. 荧光定量 PCR 法检测 MDM2 T309G 位点多态性[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2011, 16(7):577-581.