

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.32.048

人乳头瘤病毒 16E5 突变与宫颈癌的研究进展*

杨丹¹ 玛依努尔尼牙孜¹ 朱开春² 梁媛哲¹ 亚力坤²

(1 新疆维吾尔自治区人民医院 新疆 乌鲁木齐 830000; 2 新疆维吾尔自治区人民医院妇产科研究室 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:人乳头瘤病毒(Humanpapillomavirus)HPV 是发生宫颈癌的必要条件,人乳头瘤病毒 16E5 癌基因突变与宫颈癌的发生有密切的相关性。人乳头瘤病毒 E5 是一种转化作用的癌蛋白,是细胞膜或内膜整合蛋白。人乳头瘤病毒 E5 在感染的细胞中表达。主要在感染细胞克隆早期的繁殖,扩张中起重要作用。它干预生长因子受体,干扰周期蛋白和周期蛋白激酶,促进病毒基因转化,抑制抑癌基因表达,激活启动子促进病毒繁殖,并通过多种机制促使损伤细胞,通过细胞周期,使宿主细胞增殖,分化延缓,恶性化。E5 基因变异意味着功能有可能改变,可能机体或细胞对病毒变异株的免疫能力,与宫颈癌的发生和 HPV 的嗜上皮性有关,因此对人乳头瘤病毒 16E5 基因变异的研究对于人乳头瘤病毒 16 在宫颈癌发病中的作用有着不可忽略的意义。本文对人乳头瘤病毒 16E5 突变株在宫颈癌组织中的作用及其基因突变的研究现状进行分析。

关键词:人乳头瘤病毒(Humanpapillomavirus)HPV; 宫颈癌; E5 基因突变

中图分类号:R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)32-6395-03

HPV16E5 Gene Mutation and Cervical Cancer Research Progress*

YANG Dan¹, MA Yi nu er ni ya zhi¹, ZHU Kai-chun², LIANG Yuan-zhe¹, YA Li kun²

(1 Xinjiang Autonomous Region People's Hospital, Urumqi, Xinjiang, 830000, China;

2 Xinjiang Autonomous Region People's Hospital Research Center, Urumqi, Xinjiang, 830000, China)

ABSTRACT: Humanpapillomavirus DNA is necessary for the development of cervical carcinoma, there are closely relation between the virants of Humanpapillomavirus 16E5 oncogene and cervical carcinoma. Human papillomavirus oncoprotein E5 is a conversion function, the integration of cell membranes or endometrial protein. Human papillomavirus E5 expression in infected cells. mainly in the infected cell clones early breeding, play an important role in the expansion. And interfere with the growth factor receptor, interference cycle proteins and cyclin kinase promote viral oncogene transformation, inhibit the expression of tumor suppressor genes, activate the promoter for virus propagation and damage cells through a variety of mechanisms to promote the host cell through the cell cycle, proliferation, differentiation delay malignancy. The E5 gene variation means that the function may change possible body or the cells mutant virus immunity, with the occurrence of cervical cancer and the HPV addicted epithelial, so Human papillomavirus 16E5 gene variants have a non-negligible significance for human papillomavirus 16cervical cancer. this article give research for function and current study of Humanpapillomavirus 16E5 virants in cervical carcinoma.

Key words: Humanpapillomavirus; Cervical cancer; E5 gene mutation

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

Article ID:1673-6273(2014)32-6395-03

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一,在全球妇女恶性肿瘤中居第二位^[1]。研究表明,99.5%以上的宫颈癌病变与 HPV 感染有关,且主要由 HPV16 和 HPV18 引起^[2]。目前有很多学者还在研究宫颈癌的发病机制,但可以确定的是宫颈癌发生于与已明确的高危型人类乳头状瘤病毒感染有关,报道研究大多数的宫颈癌组织中检测到 HPV(Humanpapillomavirus)DNA,并且显示以人类乳头状瘤病毒 16 感染为主,并且有证据已经确定感染人类乳头状瘤病毒是发生宫颈癌的前提条件,并且证实是一个缓慢的过程,人类乳头状瘤病毒感染宫颈后,病毒先发生整合然后进入宿主 DNA 中,要经过一段时间才会使宿主细胞发生恶变。E5、E6 和 E7 蛋白是人类乳头状瘤病毒 16 表达的 3 种癌蛋白,是由早期基因编码的。相对于 E6 和 E7, E5 具有特殊的生物学活性,虽然在细胞中表达比较低,但在宫颈癌形成的早期具有十分重要的作用^[3]。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81160317)

作者简介:杨丹(1984-),女,硕士,主要研究方向:妇科肿瘤及内镜,电话:13579280442, E-mail:418845336@qq.com

(收稿日期:2013-05-19 接受日期:2013-06-18)

1 HPV16E5 基因的结构特点

HPV 是一类特异感染人皮肤、粘膜的共价双链环状 DNA 病毒,在电镜下观察为球型、由 7800-7900 碱基对组成,无包膜的 20 面体立体对称结构,直径 45~55 nm,分类上属乳多空病毒科。目前人乳头瘤病毒不能在体外细胞中进行培养。人类乳头状瘤病毒可分为分高危型、中危型和低危型。高危型有 16、18、45、56 型,与宫颈癌、膀胱癌等密切相关,低危型有 6、11 型,与尖锐湿疣等良性疾病有关,中危型有 31、33、35、51、58 型,介于二者之间。人类乳头状瘤病毒基因组是有两个 ORFs(开放阅读框架)和一个 URR(上游调节区)组成的。在开放阅读框架中包含 E1、E2、E4、E5、E6、E7 六个早期转录单位及 L1、L2 两个晚期转录区。早期区大约由 4500kb 组成^[4]。E2 开放读码框(ORF)下游是人类乳头状瘤病毒 16E5 基因,可以编码疏水性

膜联合蛋白(含 83 个氨基酸,均位于内质网和高尔基体)。E5 蛋白有 3 个疏水结构域^[5],其中第一个疏水结构域被推测为跨膜区,可能通过与其他膜蛋白的相互作用,从而决定病毒蛋白的生物活性^[6]。E5 ORF 转录单和位及 E5 蛋白在细胞中大量被表达,一般发生在感染人乳头状瘤病毒发生相关肿瘤的早期阶段,故检测 E5 可以早期发现宫颈癌。人类乳头状瘤病毒 E5 蛋白的功能有:促使稳定的细胞转化为不稳定,可使细胞有丝分裂发生和对免疫应答产生一定的影响。发生的机制是联合蛋白与 E5 蛋白在内质网钙发生相互作用,阻止 MHC I 类分子被运输到细胞膜表面而滞留于高尔基体。E5 蛋白还可以在抵抗机体的人类乳头状瘤病毒感染免疫中起到重要作用,主要是通过 EGFR(表皮生长因子受体)、PDGFR β (血小板衍生生长因子 β)以及 CSF(集落刺激因子)等各种跨膜蛋白发生相互作用。

2 HPV16E5 在宫颈癌中的作用机制

人类乳头状瘤病毒癌蛋白可以影响细胞转化和细胞有丝分裂周期的调节。E6 癌基因主要是干预 p53, E7 癌基因和 Rb 发生相互作用。人类乳头状瘤病毒 16E5 对周期蛋白和周期蛋白激酶及生长因子受体有干扰,使病毒癌基因的转换功能增强,影响抑癌基因的正常表达,反式激活基因组启动子促进病毒繁殖并通过多种机制促使损伤细胞通过细胞周期,促使宿主细胞增殖,分子延缓,恶性化^[7]。最近的报道显示在人类乳头状瘤病毒调节宿主细胞介导的免疫应答中 E5 发挥重要的影响。Suprynowicz 等^[8]报道 E5 可以明显上调(23-40 倍)T 细胞膜中神经节苷脂水平,并促进 caveolin-1/GM1 的结合。细胞表面脂筏含有神经节苷脂,神经节苷脂作用于细胞毒 T 淋巴细胞,降低细胞毒 T 淋巴细胞的活性,最终干预免疫突触的形成。此外,研究发现病毒免疫逃逸与 E5 依赖的 MHCII 成熟障碍有相关性。凋亡通路是控制细胞正常分化和增殖的重要手段,HPV 编码的蛋白 E5、E6、E7 均可以阻断凋亡通路,有助于实现细胞的永生^[9]。细胞凋亡是一个复杂的过程,E5 和 E7 癌蛋白在其中发挥着重要的作用。研究表明,E5 可以抑制 FAS, TRAIL 配体引发的凋亡信号。E7 可以抑制 TNF- α 引发的凋亡信号^[10]。

3 HPV16E5 突变研究现状

曾有报道显示人类乳头状瘤病毒 E5 有变异。如 1992 年,Chan 等人对 118 例人类乳头状瘤病毒 16 阳性的宫颈癌活检标本进行检验时,就发现了有 38 例标本的 E5 基因发生了变异。1999 年的 Eriksson 等人也有相同的发现,在宫颈癌活体标本中检测出 E5 发生突变,变异位点是 E5 编码的多肽的 8 个氨基酸。Bible 等人^[11]对 36 例临床标本进行 HPV16E5 RFLP 分析,发现 19 例有变异。大多数学者认为病毒的突变会增加病毒的致癌性,主要是通过增加病毒的转录活性来实现的。

在 1996 年,Chen 等人从氨基酸水平研究 E5 蛋白,通过研究证实了人类乳头状瘤病毒 11E5a 蛋白的转化活性。在保守 Cys-X-Cys 结构中,如果 Ser 替换 Cys-73,不会明显影响人类乳头状瘤病毒 E5a 的转化活性,但 Ser 替换了 Cys-75 或者把 Cys-73 和 Cys-75 同时替换后,人类乳头状瘤病毒 E5a 的转化活性发生变化,表明阻断 E5 的转化活性的关键是 C 端特别是 Cys-75 的突变。Adam 等人^[12]通过酵母表达系统的研究提出

HPV16E5 突变株仍可以结合 16kd 蛋白,但不能发挥正常 E5/16kd 蛋白复合体的作用。

人类乳头状瘤病毒 E5 基因组核苷酸主要在 5' 端和 3' 端发生变异,可以根据变异位点判断病毒的种系发生群,例如 AA-G183/AAc 种系特有的变异是 3967A-G, Af2 种系发生群特有的变异是 3967G-T; 相对而言 E5 蛋白的氨基酸替换较为保守^[13],E5 蛋白有特殊的选择压力,氨基酸未替换可发生在跨膜螺旋区域 11-24 的疏水残基和 46-50 疏水残基中。

国内杨娥,楚雍烈等^[14]探讨了 HPV16E5 基因突变与宫颈癌发病的关系。应用银染聚合酶链反应单联构象多态(PCR-SSCP)分析 50 份人宫颈癌活检标本进行基因突变筛查。PCR 检测显示,50 例宫颈癌组织中 HPV16E5 的检出率为 30% (15/50),其中 6 例宫颈癌 HPV16E5 扩增片段在行 SSCP 分析时发现泳动变异,突变为 40% (6/15)。可见 HPV16E5 基因的突变在宫颈癌的发生过程中具有重要作用。国内王玉婷等^[15]研究了青岛地区不同阶段宫颈上皮病变组织中 HPV16E7, E5 序列多态性与宫颈病变的相关性,表明 HPV16E5 基因核苷酸位点 3979,4042 和 4077 是区分亚洲株和欧洲株的重要位点。E5 基因变异与宫颈癌的发生和人类乳头状瘤病毒的嗜上皮性有相关,也是机体或细胞对病毒变异株的免疫能力,并且 HPV16E5 基因变异也会影响功能的改变。所以研究人类乳头状瘤病毒 16E5 基因的变异,有助于我们对人类乳头状瘤病毒 16 与宫颈癌的发生有更进一步的认识。

4 展望

E5 蛋白可以通过对 CD⁸T 细胞发挥作用,这表明 E5 蛋白可作为肿瘤抗原。Kim 等^[16]报道 E5 蛋白作为肿瘤抗原诱发 E5 特异性 CD⁸T 细胞应答,可潜在地消除肿瘤生长。体内试验表明感染人类乳头状瘤病毒后 E5 可快速表达,可以检测到 E5 mRNA 和 E5 蛋白,主要集中在鳞状上皮损伤部位,并且随病变的严重变化 E5 mRNA 含量也升高。宫颈感染人类乳头状瘤病毒后,宫颈上皮细胞转化的早期出现 E5 的表达,但是在早期损伤中癌细胞的含量很少。此时,如果发现免疫细胞是完全有可能清除癌细胞,即阻止发展为浸润性宫颈癌。如 E5 蛋白特异性的 CD⁸CTL 如果能有效地杀伤肿瘤细胞。所以,为预防由人类乳头状瘤病毒 16 所致的宫颈癌,我们可以用 E5 蛋白作为疫苗,因为 E5 基因可能是更好的一个靶基因会比人类乳头状瘤病毒 16 其他基因敏感,更有可能在肿瘤的早期完全清除肿瘤细胞。所以研究人类乳头状瘤病毒 16 治疗性疫苗很有远大意义,但是由于人类乳头状瘤病毒 16 存在许多具有地域特征的地方变异株,并且这些变异株能引起包括免疫源性在内的生物学活性的差异。

人类乳头状瘤病毒感染是宫颈癌的病因这一假说早在二十世纪七十年代就被德国学者证实。目前基本已经阐明宫颈癌的发生与高危人类乳头状瘤病毒(16,18)是密切相关的。宫颈癌转化与发生的关键步骤是人类乳头状瘤病毒整合到宿主细胞染色体上。文献报道 HPV 感染使宫颈癌的相对危险性增加 250 倍^[17]。子宫颈癌的发生发展是一个相对缓慢的过程,要经历几年或十余年,其开始是宫颈上皮内瘤变(CIN),并有 CIN1,2,3 渐进性,可自然消退或可逆。这其中病变处于动态变

化中,即消退(逆转),持续(稳定)和发展(恶化)^[18]。由于宫颈癌的发生是一个相当缓慢的过程,从 CIN 演变到宫颈癌大约需要 10 年,所以为了阻断癌变的发生我们需要及时诊断、正确处理癌前病变的发生发展。慢性宫颈炎患者也可以出现 HPV 阳性,推测正常宫颈感染 HPV 可能是一过性感染,并未与宿主 DNA 发生整合,因此并不致病^[19]。HPV16 变异株的感染被多数研究者认为较原型发生宫颈上皮内瘤变和浸润性宫颈癌的风险更高^[20]。目前大部分学者还只是在研究人类乳头状瘤病毒 16,18 变异型,宫颈癌发生发展是一个复杂的过程,人类乳头状瘤病毒 16,18 变异型在这个过程中具体的作用还不是十分清楚。目前我们应对各国各地区的变异株进行大量全面的研究,并且进行分析及证实突变规律。虽然对人类乳头状瘤病毒 16 变异株的研究还在初步阶段,但目前的研究结果为我们对 HPV16 变异株更广泛深入的研究奠定了基础。

参 考 文 献(References)

- [1] 永灵兰,张丽君.乌鲁木齐地区汉族和维吾尔族个体因素与宫颈癌发病的对比分析[J].中国优生优育,2008,14(4):190
Yong Ling-lan, Zhang Li-jun. Wulumuqi Han and Uygur individual factors and comparative analysis of the incidence of cervical cancer [J]. Chinese Journal of Healthy Birth & Child Care, 2008, 14(4):190 (In Chinese)
- [2] Gobo F, Concha A, Ortiz M. Human Papillomavirus(HPV) type distribution in females with abnormal cervical cytology, a correlation with histological study[J]. Open Virol J, 2009,3:60-66
- [3] 李薇,万艳平.人乳头瘤病毒 16 型 E5 蛋白功能研究进展[J].微生物学免疫进展,2010,38(1):63
Li Wei, Wan Yan-ping. Human papillomavirus type 16 E5 protein function research progress [J]. Prog in Microbiol Immunol, 2010,38(1):63(In Chinese)
- [4] Wu Yu-ping, Chen Yu-long, Li Long-yu, et al. Analysis of mutations in the E6/E7 oncogenes and L1 gene of human papillomavirus 16 cervical cancer isolates from China [J]. Journal of General Virology, 2006, 87, 1181-1188
- [5] Hu L, Plafker K, Vorozhko V, et al. Human papillomavirus 16 E5 induces bi-nucleated cell formation by cell-cell fusion [J]. Virology, 2009,384(1):125-134
- [6] Lewis C, Baro MF, Marques M, et al. The first hydrophobic region of the HPV16 E5 Protein determines protein cellular location and facilitates anchorage independent growth[J]. Virol J, 2008,5:30:1-10
- [7] 蒙雅萍,李倪.人乳头瘤病毒 E5 的研究进展[J].中国妇幼健康研究, 2006,17(3):238
Meng Ya-Ping, Li Ni. Human papillomavirus E5 Research Progress [J]. Chinese Journal of Maternal and Child Health Research, 2006,17(3):238(In Chinese)
- [8] Suprynowicz FA, Disbrow GL, Krawczyk E, et al. HPV-16 E5 oncoprotein upregulates lipid raft components caveolin-1 and ganglioside GM1 at the plasma membrane of cervical cells [J]. Oncogene, 2008, 27(49): 6396
- [9] 梁德光,何之恒.人乳头瘤病毒及其致癌机制的研究进展[J].生命科学 2008,20(6):845
Liang De-guan, He Zhi-heng. The human papillomavirus its tumor mechanisms in progress [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2008,20(6):845(In Chinese)
- [10] Thompson DA, Zacny V, Belinsky GS, et al. The HPV E7 oncoprotein inhibits tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis in normal human fibroblasts[J]. Oncogene, 2001, 20 (28): 3629-3640
- [11] Bible J M, Mant C, Best J M, et al. Cervical lesions are associated with human Papillomavirus type 16 intratypic variants that have high transcriptional activity and increased usage of common mammalian codons[J]. J Gen virol, 2000,81(6):1517-1527
- [12] Adam D E X L F, Carter J J, Galloway D A, et al. Acquisition and natural history of human papillomavirus type 16 Variant infection among a cohort of female university students[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers perv, 2002,11(4):343-351
- [13] Bible J M, Ch ristei n M, Jennif er MB, et al. Ce r vical lesi on are associat ed with human papilloma virus type 16 intratypic variants that have high transcrip tional activi2t y and i ncreased usage of common mammalian codons[J]. J Gen Virol, 2000, 81:1517-1524
- [14] 杨娥, 楚雍烈. 宫颈癌组织中乳头瘤病毒 16 型 E5 基因的变异 [J].微生物学杂志,2001,30(4):11-12
Yang E, Chu Yong-li. Cervical cancer tissue of human papillomavirus type 16 E5 gene mutation [J]. Journal of Microbiology, 2001,30(4): 11-12(In Chinese)
- [15] 王玉婷. 不同阶段宫颈上皮组织中乳头瘤病毒 16 型转化基因 E7 和 E5 序列多态性分析[J].青岛大学,2011,6:22-25
Wang Yu-ting. Different stages of cervical epithelial tissues of human papillomavirus type 16 transforming gene E7 and E5 sequence polymorphism analysis[J]. Qingdao University, 2011,6:22-25(In Chinese)
- [16] Kim S W, Yang JS. Human Papillomavirus type 16 E5 Protein as a therapeutic target[J]. Yonsei Med J, 2006,47(1):1-14
- [17] Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer:from basicstudies to clinical application[J]. Nat Rev Cancer, 2002,2(5):342-350
- [18] 唐学研, 杨秀群. 宫颈癌筛查的意义及进展 [J]. 实用医学杂志, 2009,25(5):687
Tang Xue-yan, Yang Xiu-qun. Significance of cervical cancer screening and progress[J]. Practical Journal of Medicine, 2009,25(5):687(In Chinese)
- [19] Johnston EI, Logani S. Cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance in perimenopausal and postmenopausal women: lessons learned from human papillomavirus DNA testing[J]. Cancer, 2007,111(3):160-165
- [20] 何国琳, 方芳. 人乳头瘤疫苗的研究进展 [J]. 实用妇产科杂志 2008,24(3)
He Guo-lin, Wan Fang. Research progress of the human papillomavirus vaccine [J]. Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2008,24(3) (In Chinese)