

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.03.012

· 临床研究 ·

UbcH10 在脑膜瘤组织中的表达及其临床意义

王涛^{1,2}, 王国喜¹, 鲁维山¹, 顾伏平¹, 王奇章¹, 卢亦成³, 胡国汉³(1. 中国人民解放军第513医院外科, 甘肃酒泉 732750; 2. 中国人民解放军第306医院神经外科, 北京 100101; 3. 第二军医大学长征医院神经外科, 上海 200003)

[摘要] **目的:**探讨泛素结合酶 UbcH10(ubiquitin-conjugating enzyme H10)蛋白在不同病理级别脑膜瘤组织中的表达及其临床意义。**方法:**选择2002年4月至2009年9月在长征医院神经外科手术治疗并经病理确诊、且临床随访资料完整的脑膜瘤患者47例,所有经诊断的颅内脑膜瘤病例均按2007年WHO分类标准分级,应用免疫组织化学方法研究 UbcH10及Ki-67蛋白在不同病理级别脑膜瘤组织中的表达水平,并采用 Spearman 方法分析 UbcH10与Ki-67蛋白表达的相关性。采用 Kaplan-Meier 法分析 UbcH10表达与脑膜瘤无复发生存间的关系,以单因素和多因素回归模型分析 UbcH10表达与脑膜瘤患者预后的关系,筛选影响预后的独立因素。**结果:**UbcH10蛋白主要表达于脑膜瘤细胞核中,在脑膜瘤组织中阳性表达率显著高于正常脑组织[(5.57±1.72)% vs 0, $P=0.00$]。定量分析证实其在非典型性及间变型脑膜瘤中的表达水平明显高于典型性脑膜瘤[(10.53±5.79)% vs (4.23±2.85)% , $P<0.01$],提示 UbcH10蛋白的表达与脑膜瘤病理分级有关。UbcH10表达与Ki-67蛋白的表达呈正相关($r=0.77, P<0.01$)。Kaplan-Meier生存曲线结果显示,高UbcH10、Ki-67表达及高级别病理分级脑膜瘤患者相对于低UbcH10($P=0.007$)、Ki-67表达($P=0.018$)及低级别脑膜瘤病理分级患者无复发生存期显著缩短。Cox多因素分析显示,肿瘤病理分级($P=0.029$)及UbcH10表达水平($P=0.044$)为影响脑膜瘤患者预后的独立因素,风险比(hazard ratio, HR)分别为2.918和4.756。UbcH10过表达与脑膜瘤的复发明显相关,并且成为独立的预后因素,但还不能确定性别、年龄、Ki-67表达水平、肿瘤大小以及肿瘤位置对预后有影响。**结论:**UbcH10可能参与了脑膜瘤的发生、发展过程,其表达情况可作为一个独立的风险评估指标预测脑膜瘤的预后。

[关键词] 脑膜瘤;UbcH10;Ki-67;预后;生存分析

[中图分类号] R739.45; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)03-0323-07

Expression of ubiquitin-conjugating enzyme H10 in meningioma tissues and its clinical significance

Wang Tao^{1,2}, Wang Guoxi¹, Lu Weishan¹, Gu Fuping¹, Wang Qizhang¹, Lu Yicheng³, Hu Guohan³(1. Department of Surgery, No. 513 Hospital of People's Liberation Army, Jiuquan 732750, Gansu, China; 2. Department of Neurosurgery, No. 306 Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100101, China; 3. Department of Neurosurgery, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

[Abstract] **Objective:**To investigate the expression of ubiquitin-conjugating enzyme H10 (UbcH10) protein in meningiomas tissues of different pathological grades and its clinical significance. **Methods:**Forty-seven patients diagnosed as meningioma with integrity clinical and follow-up information during April 2002 to September 2009 were selected from Department of Neurosurgery, Changzheng Hospital and were graded according to the 2007 WHO standard. The expressions of UbcH10 and Ki-67 proteins in meningioma tissues of various pathological grades were examined by immunohistochemistry. The correlation between the expressions of UbcH10 and Ki-67 protein was analyzed by using Spearman method. The

[基金项目] 上海市科学技术委员会基金资助项目(No. 08431900400)。Project supported by the Scientific Foundation of Science and Technology Committee of Shanghai (No. 08431900400)

[作者简介] 王涛(1984-),男,山西省太原市人,博士,主治医师,主要从事中枢神经系统肿瘤基础和临床方面的研究。E-mail:wangtao0111@gmail.com

[通信作者] 胡国汉(Hu Guohan, corresponding author), E-mail:huguohan@hotmail.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20130605.0925.009.html>

correlation of UbcH10 expression with meningioma recurrence-free survival was analyzed using the Kaplan-Meier method.

Results: UbcH10 protein was mainly expressed in the cytoplasm of meningioma cells. The expression of UbcH10 protein in meningioma tissues was significantly higher than that in normal brain tissues ($[5.57 \pm 1.72]\%$ vs 0 , $P = 0.00$). Quantitative analysis confirmed that the expression of UbcH10 protein was significantly higher in atypical and anaplastic meningiomas as compared with classic meningiomas ($[10.53 \pm 5.79]\%$ vs $[4.23 \pm 2.85]\%$, $P < 0.01$), indicating that the expression of UbcH10 protein was correlated with meningioma pathological grade and recurrence. The expression of UbcH10 protein was correlated with the expression of Ki-67 protein ($r = 0.77$, $P < 0.01$). Kaplan-Meier survival curve result indicated patients with high expression level of UbcH10 and Ki-67 and higher pathological grade showed a significantly shortened recurrence-free survival than those with a lower expression level of UbcH10 ($P = 0.007$) and Ki-67 ($P = 0.018$), and a lower pathological grade ($P < 0.01$). Cox multivariate regression analysis showed that the pathological grade ($P = 0.029$) and the expression level of UbcH10 ($P = 0.044$) were independent prognosis factors for meningioma patients, with the hazard ratio of 2.918 and 4.756, respectively. Whereas, the clinicopathological factors, including age, gender, Ki-67 level, tumor diameter and tumor location were not independent factors for prognosis. **Conclusion:** UbcH10 may be involved in the development and progression of meningioma, and UbcH10 expression is an independent risk factor that could predict the prognosis.

[**Key words**] meningioma; ubiquitin-conjugating enzyme H10(UbcH10); Ki-67; prognosis; survival analysis

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(3): 323-329]

脑膜瘤是中枢神经系统最常见的肿瘤之一,位居中枢神经系统原发肿瘤第 2 位^[1]。泛素结合酶 UbcH10(ubiquitin-conjugating enzyme, UbcH10)属于泛素结合酶 E2 家族,参与细胞周期调控、DNA 转录、修复、细胞增殖、分化和凋亡等诸多生物学过程^[2]。目前研究^[3]表明, UbcH10 是一种与肿瘤增殖相关的核抗原,是近年研究较多的反映肿瘤增殖活性的蛋白,其异常表达与肿瘤的增殖浸润、转移潜能和预后等密切相关,但其在脑膜瘤中的表达及与脑膜瘤预后之间的关系目前尚不明确。本研究采用免疫组织化学方法研究 UbcH10 蛋白在不同级别脑膜瘤组织中的表达水平,并明确 UbcH10 表达与增殖相关抗原 Ki-67 的关系及临床意义,同时通过对脑膜瘤患者多项临床及病理特征进行的单因素及多因素分析,探讨 UbcH10 阳性表达率与脑膜瘤复发及预后的相关性,并进行可靠性验证。

1 材料与方法

1.1 临床资料及病例选择

本研究收集自 2002 年 4 月至 2009 年 9 月间于上海长征医院神经外科行手术治疗的患者共 47 例,术后均经病理诊断证实为脑膜瘤,并具备完整的临床随访资料。其中男性 20 例、女性 27 例(男:女 = 0.74:1.0),年龄为 29~71 岁,中位年龄为 51.3 岁,随访 11~80 个月,中位随访时间为 55 个月。根据 2007 年 WHO 的中枢神经系统肿瘤病理诊断标准,将脑膜瘤组织标本归类为良性(I 级)24 例、非典型

性(II 级)13 例和恶性脑膜瘤(III 级)10 例。同时完整记录了患者的肿瘤大小、肿瘤位置、肿瘤切除程度等临床病理资料。以首次手术后至复发的时间作为无复发生存(recurrence-free survival, RFS),失访和至随访结束仍未复发的作为结尾值。正常脑组织均来源于脑外伤或脑出血后行内减压患者,其中男性 5 例,女性 3 例。实验中涉及到脑膜瘤标本及临床资料的收集经医院伦理委员会批准,并与患者签署了知情同意书。

1.2 免疫组织化学法检测脑膜瘤组织中 UbcH10 及 Ki-67 阳性率

经 10% 甲醛液固定处理的组织标本用石蜡包埋,连续冠状切片,切片的厚度约为 $4 \mu\text{m}$;切片组织于 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 温水中展片贴后于经明矾明胶防脱处理后的载玻片上,置于 $55 \text{ }^\circ\text{C}$ 温箱中烘烤过夜。制备好的组织切片依次经脱蜡水化、抗原修复后封闭 20 min。分别加入小鼠抗 UbcH10 一抗(稀释度为 1:200)或 Ki-67 一抗(稀释度为 1:100), $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱孵育过夜, TBST 漂洗后加入辣根过氧化物标记的马抗鼠 IgG (稀释度为 1:500)室温孵育 60 min, ABC 法光镜下染色 45 s, 盐酸酒精分化、脱水并封片。应用 MCID Evaluation 7.0 图像分析系统对染色切片进行图像分析。阳性细胞判断标准: Ki-67 和 UbcH10 阳性反应均呈棕褐色,颗粒状。染色部位主要定位于细胞核。每张切片随机选取 5 个具有代表性的高倍视野共计数 1 000 个肿瘤细胞。基于前期研究^[4], Ki-67 阳性细胞数 $\geq 5\%$ 为强染色,未见阳性细胞或阳性

率 <5% 为无染色或弱染色,通过计算 UbcH10 细胞阳性染色率平均值对其进行强弱阳性染色率划分。

1.3 统计学处理

采用 SPSS18.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用乘积极限法(Kaplan-Meier)和对数秩和(Long-rank)检验分析其与患者各项临床病理指标之间的相关性,并绘制生存曲线。通过配对 *t* 检验比较不同病理级别组织间 UbcH10 和 Ki-67 阳性染色率差别,并采用 Spearman's 等级相关系数检验进行相关性分析;多因素分析采用 Cox 比例风险回归模型进行检验。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 UbcH10 在不同级别脑膜瘤组织中的表达

免疫组化结果(图 1A~C)提示,UbcH10 蛋白主要表达于阳性染色细胞的细胞核。在正常脑组织中无表达,在脑膜瘤组织中阳性率为 $(5.57 \pm 1.72)\%$,与正常脑组织相比差异显著($P = 0.00$)。同时染色结果显示不同级别脑膜瘤组织中 UbcH10

蛋白的阳性率存在显著差异,非典型性及间变性脑膜瘤(II、III级)组织中 UbcH10 的阳性率与典型性脑膜瘤(I级)组织中 UbcH10 蛋白的阳性率相比显著增高[$(10.53 \pm 5.79)\%$ vs $(4.23 \pm 2.85)\%$, $P < 0.01$](图 2A)。提示 UbcH10 蛋白的表达与脑膜瘤病理分级有关。

2.2 UbcH10 与 Ki-67 蛋白表达的相关性

免疫组化染色结果(图 1D~F)显示,增殖相关抗原 Ki-67 表达于脑膜瘤细胞核,呈棕黄色染色。其在非典型性及间变性脑膜瘤(II、III级)组织中的阳性率也明显强于其在典型性脑膜瘤(I级)组织中的阳性率[$(9.16 \pm 3.34)\%$ vs $(2.32 \pm 0.62)\%$, $P < 0.01$](图 2B)。同时,UbcH10 阳性表达与增殖抗原 Ki-67 蛋白表达呈明显的正相关关系($r = 0.77$, $P < 0.01$)(图 2C)。结果(图 2)提示,在不同级别的脑膜瘤组织中,UbcH10 蛋白的表达水平差别显著,高级别脑膜瘤组织中的 UbcH10 阳性表达水平明显强于低级别脑膜瘤。Kaplan-Meier 法分析结果显示,UbcH10 高表达患者与 UbcH10 低表达患者相比,其脑膜瘤无复发生存率更差(图 2D)。

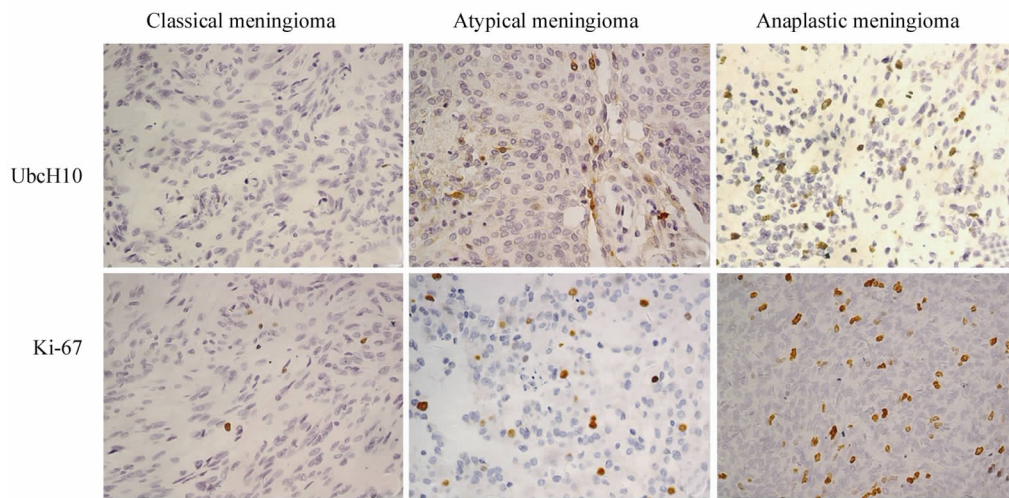


图 1 不同级别脑膜瘤组织中 UbcH10 和 Ki-67 蛋白的表达($\times 400$)

Fig. 1 Expressions of UbcH10 and Ki-67 proteins in meningioma tissues of different grades ($\times 400$)

2.3 UbcH10 表达与脑膜瘤临床病理特征间关系

通过以 UbcH10 蛋白阳性表达为指标,观察记录随访患者的年龄、性别、肿瘤大小、部位、肿瘤病理分级及预后等多项指标,用以研究 UbcH10 表达与随访 47 例脑膜瘤患者临床病理特征之间的关系。结果(表 2)显示,UbcH10 表

达与肿瘤病理级别呈显著正相关($r = 0.82$, $P < 0.01$);另外,与无复发脑膜瘤患者相比,在所有复发脑膜瘤患者的肿瘤组织中,UbcH10 蛋白明显表达增强[$(8.27 \pm 1.93)\%$ vs $(2.14 \pm 0.66)\%$, $P < 0.01$]。同时,UbcH10 的表达与患者性别、年龄、肿瘤大小及部位无显著相关性。

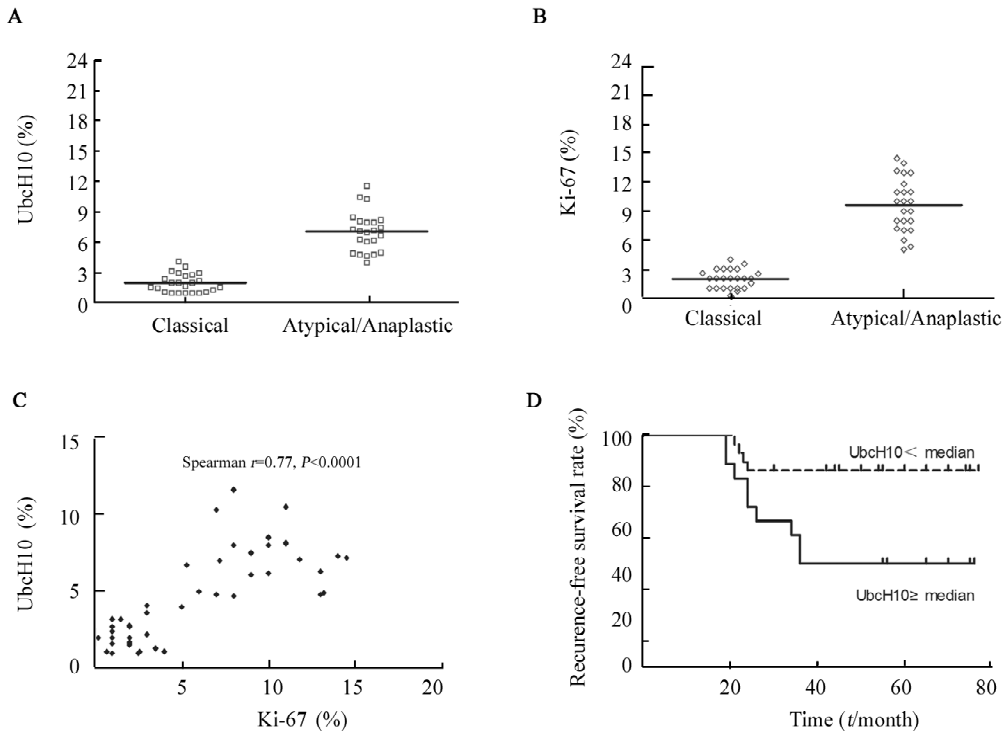


图 2 不同级别脑膜瘤组织中 UbcH10 及 Ki-67 表达相关性分析及脑膜瘤患者无复发生存分析
Fig. 2 Correlation analysis of expressions of UbcH10 and Ki-67 in meningiomas tissues of different grades and recurrence-free survival analysis of the meningioma patients

A, B: Expression levels of UbcH10 or Ki-67 in high-grade meningioma versus low-grade meningioma;
 C: Correlation between the expression of UbcH10 and Ki-67; D: Correlation between the expression of UbcH10 and the recurrence-free survival rate

2.4 UbcH10 表达与脑膜瘤无复发生存间的关系

应用 Kaplan-Meier 法描绘生存曲线,以首次手术后至复发的时间作为无复发生存 (recurrence-free survival, RFS),失访和至随访结束仍未复发的作为结尾值。分别将患者年龄、性别、肿瘤大小、部位、肿瘤病理分级、Ki-67 阳性率及 UbcH10 阳性率等 7 项临床病理特征作单因素分析,采用 Cox 模型进行多因素生存分析,将 Ki-67 阳性率、UbcH10 阳性率以及肿瘤病理级别等 3 种因素放入模型,分析 UbcH10 阳性表达与脑膜瘤预后的关系。将临床资料分为 2 组,分别为 UbcH10 阳性率 \geq 平均染色率组及 UbcH10 阳性率 $<$ 平均阳性率组,两组中位随访时间无明显统计学差异(54 个月 vs 45.5 个月, $P > 0.05$)。

结果显示,UbcH10 阳性表达与脑膜瘤复发呈负相关,高 UbcH10 阳性表达组无复发生存期明显缩短(37.2 vs 76.8 个月, $P < 0.01$)。单因素分析结果(表 3)显示,UbcH10 高表达、Ki-67 高表达及高级

别脑膜瘤病理分级患者相对于 UbcH10 低表达($P = 0.007$)、Ki-67 低表达($P = 0.018$)及低级别脑膜瘤病理分级患者,其肿瘤无复发生存期显著缩短($P < 0.05$)。提示,有统计学意义变量因素包括:肿瘤病理分级、Ki-67 及 UbcH10 表达水平。

利用 Cox 风险比例模型,逐步回归进行多因素分析,结果显示肿瘤病理分级($P = 0.029$)及 UbcH10 高表达($P = 0.044$)为影响脑膜瘤预后的独立因素,风险比(hazard ratio, HR)分别为 2.918 和 4.756。但还不能确定 Ki-67 表达对脑膜瘤预后有影响(表 4)。因此,脑膜瘤病理分级仍是影响脑膜瘤复发的最主要独立预后因素,低级别脑膜瘤患者无复发生存期明显延长。另外,UbcH10 阳性表达也可做为评估脑膜瘤患者预后的有价值指标,相对于 UbcH10 低表达阳性率脑膜瘤患者,UbcH10 蛋白表达水平高的脑膜瘤患者肿瘤更易复发,预后较差。

表1 UbcH10 表达与脑膜瘤患者临床病理特征间的关系

Tab.1 Relationship of UbcH10 expression with clinicopathologic features of meningiomas patients

| Clinicopathologic parameter | n | UbcH10 | | P |
|-----------------------------|----|-----------|----------|-------|
| | | < Median* | ≥ Median | |
| Age(t/a) | | | | 0.980 |
| < 55 | 26 | 16 | 10 | |
| ≥ 55 | 21 | 13 | 8 | |
| Gender | | | | 0.979 |
| Male | 20 | 13 | 7 | |
| Female | 27 | 17 | 10 | |
| Tumor diameter | | | | 0.391 |
| < 4 cm | 22 | 15 | 7 | |
| ≥ 4 cm | 25 | 14 | 11 | |
| Tumor location | | | | 0.834 |
| Convexity | 20 | 12 | 8 | |
| Parasagittal sinus | 8 | 6 | 2 | |
| Parafalcine | 8 | 5 | 3 | |
| Skull base | 11 | 6 | 5 | |
| Pathological classification | | | | 0.001 |
| I | 24 | 23 | 1 | |
| II | 13 | 6 | 7 | |
| III | 10 | 0 | 10 | |
| Recurrence | | | | 0.001 |
| Present | 16 | 1 | 15 | |
| Absent | 31 | 28 | 3 | |

* Median = Average value of UbcH10 expression rate(5.57 ± 1.72)%

3 讨论

脑膜瘤是中枢神经系统最常见的肿瘤之一,约占成年人颅内肿瘤的30%。其中I级脑膜瘤为最常见临床类型,约占所有类型脑膜瘤的70%~85%,II级脑膜瘤即所谓的非典型性脑膜瘤,具有潜在恶性。III级脑膜瘤即恶性脑膜瘤,临床少见,细胞具有恶性肿瘤细胞的特点,生长迅速并向周围组织内浸润,可发生转移^[5]。脑膜瘤的治疗手段主要包括手术切除及放射治疗等,虽然近10年来脑膜瘤的治疗理念和措施不断发展和进步,有效改善了患者的预后及生活质量,但对于非典型性脑膜瘤和间变型脑膜瘤,完全切除

后5年的复发率仍分别高达38%和78%^[6]。与其他肿瘤相似,脑膜瘤的发生发展和恶性演进亦是多因素、多步骤的过程,众多基因表达的异常参与其中。新的治疗手段,如基因靶向治疗等虽有望成为治愈脑膜瘤的手段之一,但目前仍缺乏理想的治疗靶标。因此寻找调控脑膜瘤细胞恶性生物学行为的蛋白分子,明确其在脑膜瘤发病过程中的病理机制,已成为神经科学领域的研究热点之一。

表2 47例脑膜瘤患者单因素变量与肿瘤复发的分析

Tab.2 Analysis of single prognostic variable with recurrence in 47 meningiomas patients

| Variable | N | Recurrence rate [n/(%)] | P |
|-----------------------------|----|-----------------------------|-------|
| Pathological classification | | | |
| I | 24 | 0(0.0) | 0.001 |
| II | 13 | 6(46.2) | |
| III | 10 | 10(100.0) | |
| Expression of Ki-67 | | | |
| < 5% | 28 | 3(10.7) | 0.018 |
| ≥ 5% | 19 | 13(68.4) | |
| Expression of UbcH10 | | | |
| < 5% | 29 | 1(3.4) | 0.007 |
| ≥ 5% | 18 | 15(83.3) | |

泛素/蛋白酶体介导的蛋白质降解途径(Ubiquitin-proteasome proteolytic pathway, UPP)是蛋白质转录后降解的重要方式之一,此途径主要由泛素活化酶(E1)、泛素结合酶(E2)、泛素连接酶(E3)和26S蛋白酶体组成。底物蛋白通过上述酶的序贯作用后与泛素发生共价结合,继而被26S蛋白酶体识别并降解。该途径参与染色体的分离、细胞周期调控、DNA转录/修复等诸多生物学过程。染色体的准确分离对细胞生存和遗传学稳定至关重要,姐妹染色单体必须保证适时分离,若过早分离,则有可能导致分配到子代细胞中的染色体数目不均,最终形成肿瘤细胞。因此,细胞周期调控的功能缺陷也就成为肿瘤发生及发展的关键环节^[7]。现认为多种E2蛋白家族成员参与细胞周期的调控,且为APC/C依赖性细胞周期蛋白泛素化降解过程所必需。作为E2蛋白家族成员之一的泛素结合酶UbcH10,被认

为是 UPP 途径中的关键酶之一,其过度表达可引起检验点功能异常,细胞周期紊乱,分裂期染色体错误

分离乃至错配,造成子代细胞的染色体异常,可能是细胞恶变的重要分子基础之一^[8-10]。

表 3 47 例脑膜瘤患者 Cox 回归多因素生存分析
Tab. 3 Cox multivariate regression analysis of 47 cases of meningiomas

| Variable | B | SE | Wald | df | P | HR | 95.0 % CI for Exp(B) | |
|-----------|--------|-------|-------|----|-------|-------|----------------------|--------|
| | | | | | | | Lower | Upper |
| Ki-67 | -0.775 | 0.928 | 0.696 | 1 | 0.404 | 0.461 | 0.075 | 2.842 |
| UbcH10 | 0.832 | 0.436 | 4.034 | 1 | 0.044 | 2.918 | 1.807 | 13.928 |
| WHO Grade | 1.559 | 0.713 | 4.790 | 1 | 0.029 | 4.756 | 1.177 | 9.222 |

目前研究^[3,11-12]表明,泛素结合酶 UbcH10 表达水平在许多正常组织中非常低,但是在大多数恶性肿瘤组织如乳腺癌、卵巢癌、脑胶质细胞瘤、大肠癌等组织中却高表达。体外实验^[11]发现,UbcH10 参与肿瘤细胞增殖及恶性转化。研究^[13-15]均证实 UbcH10 在肿瘤发生发展过程中可能扮演一个“枢纽基因”的角色,并与肿瘤的进展有密切关系。但 UbcH10 在不同级别脑膜瘤组织中的表达及与脑膜瘤临床病理特征和预后之间的关系,目前仍不十分清楚,因此开展 UbcH10 在脑膜瘤组织中功能的研究有着重要的意义。

本研究采用免疫组化、生存分析等手段,研究不同级别脑膜瘤中 UbcH10 蛋白表达水平及其与脑膜瘤临床病理特征的相关性,初步探讨了泛素结合酶 UbcH10 在脑膜瘤发生、发展过程中的作用。结果显示,UbcH10 表达与脑膜瘤病理级别及肿瘤复发率呈正相关,这与 Fèvre-Montange 等^[17]的关于不同级别脑膜瘤组织中 UbcH10 mRNA 表达水平有明显差异的结果相一致,UbcH10 mRNA 表达水平在间变性脑膜瘤组织中表达明显上调,与良性脑膜瘤及非典型性脑膜瘤相比差别显著。同时,本研究中,高级别脑膜瘤组织中 UbcH10 蛋白表达水平明显强于低级别脑膜瘤,提示在高级别脑膜瘤中,UbcH10 在翻译后水平上调。UbcH10 表达与增殖抗原 Ki-67 蛋白表达的显著相关关系提示,UbcH10 与肿瘤细胞增殖及恶性演变等生物学行为相关。

以上实验结果及之前关于 UbcH10 在细胞周期调控及与其他恶性肿瘤关系的研究均提示,泛素结合酶 UbcH10 可能参与脑膜瘤细胞增殖等肿瘤生物学过程,并可促进肿瘤恶化。本研究以 UbcH10 阳性表达率为研究指标,探讨了其与脑膜瘤患者临床病理特征之间的关系,并经过单因素及多因素分析,表明 UbcH10 蛋白的表达水平可能成为判断脑膜瘤

患者术后复发风险的独立指标,UbcH10 蛋白高表达的脑膜瘤患者的无复发生存期明显缩短,长期预后较差。本研究也证实了 UbcH10 在脑膜瘤组织中的表达与肿瘤病理级别及肿瘤细胞增殖活性的关系,但是,关于 UbcH10 表达在脑膜瘤细胞增殖及恶性转化中的作用及靶向 UbcH10 的 RNA 干扰对脑膜瘤细胞增殖、凋亡及细胞周期的影响等仍需进一步实验加以研究。

[参 考 文 献]

- [1] Hanft S, Canoll P, Bruce JN. A review of malignant meningiomas diagnosis, characteristics and treatment [J]. Neurooncol, 2010, 99(10): 433-443.
- [2] Du H, Jie L, Xu W, et al. A monoclonal antibody against a potential cancer biomarker, human ubiquitin-conjugating enzyme E2 [J]. Hybridoma, 2012, 31(3): 196-202.
- [3] Jiang L, Bao Y, Lu YC, et al. Knockdown of ubiquitin-conjugating enzyme E2C/UbcH10 expression by RNA interference inhibits glioma cell proliferation and enhances cell apoptosis *in vitro* [J]. Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136(2): 211-217.
- [4] 赵黎明,孙光远,修清玉,等. UbcH10 基因沉默对肺癌 NCI-H226 细胞增殖及细胞周期的影响 [J]. 第二军医大学学报, 2012, 6(33): 608-613.
- [5] 杨学军. 解读《世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类(2007 年)》[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2007, 33(9): 513-517.
- [6] Maier H, Ofner D, Hittmair A, et al. Classic, atypical, and anaplastic meningioma: Three histopathological subtypes of clinical relevance [J]. J Neurosurg, 1992, 77(17): 61-63.
- [7] Jääskeläinen J. Seemingly complete removal of histologically benign intracranial meningioma: Late recurrence rate and factors predicting recurrence in 657 patients. A multivariate analysis [J]. Surg Neurol, 1986, 26(5): 461-469.
- [8] Kops GJ, Weaver BA, Cleveland DW. On the road to cancer: Aneuploidy and the mitotic checkpoint [J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(8): 773-785.
- [9] Rape M, Reddy SK, Kirschner MW. The processivity of multi-ubiquitination by the APC determines the order of substrate degra-

- dation [J]. Cell, 2006, 124(7): 89-103.
- [10] Reddy SK, Rape M, Margansky WA, et al. Ubiquitination by the anaphase-promoting complex drives spindle checkpoint inactivation [J]. Nature, 2007, 446(19): 921-925.
- [11] Van Ree JH, Jeganathan KB, Malureau L, et al. Overexpression of the E2 ubiquitin-conjugating enzyme UbcH10 causes chromosome missegregation and tumor formation [J]. Cell Biol, 2010, 188(5): 83-100.
- [12] Wagner KW, Sapinoso LM, El-Rifai W, et al. Overexpression, genomic amplification and therapeutic potential of inhibiting the UbcH10 ubiquitin conjugase in human carcinomas of diverse anatomic origin [J]. Oncogene, 2004, 23(11): 6621-6629.
- [13] Berlingieri MT, Pallante P, Sboner A, et al. UbcH10 is overexpressed in malignant breast carcinomas [J]. Eur J Cancer, 2007, 43(3): 2729-2735.
- [14] Pallante P, Malapelle U, Berlingieri MT, et al. UbcH10 overexpression in human lung carcinomas and its correlation with EGFR and p53 mutational status [J]. Eur J Cancer, 2013, 49(5): 1117-1126.
- [15] Ieta K, Ojima E, Tanaka F, et al. Identification of overexpressed genes in hepatocellular carcinoma, with special reference to ubiquitin-conjugating enzyme E2C gene expression [J]. Int J Cancer, 2009, 121(7): 33-38.
- [16] Fèvre-Montange M, Champier J, Durand A, et al. Microarray gene expression profiling in meningiomas: Differential expression according to grade or histopathological subtype [J]. Int J Oncol, 2009, 35(9): 1395-1407.
- [收稿日期] 2013-01-20 [修回日期] 2013-04-20
[本文编辑] 周玲琳

· 科技动态 ·

长链非编码 RNA——NeST 调控小鼠对病原体的易感性和 *IFN- γ* 基因的活化

表观遗传学通常指基因表达通过有丝分裂或减数分裂发生了可遗传的改变,而 DNA 序列不发生改变。表观遗传学的机制主要包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰及非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)调控。ncRNA 是指不能翻译为蛋白质的功能性 RNA,分为看家 ncRNA 和调控 ncRNA,其中具有调控作用的 ncRNA 按大小主要分为两类:短链 ncRNA(包括 siRNA、miRNA、piRNA)和长链 ncRNA(long non-coding RNA, lncRNA)。大量研究表明,ncRNA 在表观遗传学修饰中扮演了重要的角色,能在基因及染色体水平对基因表达进行调控,但相对于其他生物(如酵母、果蝇、线虫及植物等),哺乳动物细胞中表观遗传学的研究相对滞后。

发表在《Cell》上的新近研究解析了 lncRNA 的新调控机制,Gomez 等研究发现了一种基因间长链非编码 RNA(large intergenic non-coding RNA, lincRNA),称为 NeST,能够调节小鼠对病毒和细菌感染的反应性,通过招募 H3K4 的甲基化转移酶到 *IFN- γ* 基因座位,增强 CD8⁺ T 细胞中 *IFN- γ* 的表达。

泰勒病毒(Theiler's virus, THV)是一种小核糖核酸病毒,大部分小鼠能通过自身免疫系统清除 THV 病毒,但 SJL/J 小鼠对此病毒相当敏感,该病毒能在 SJL/J 小鼠脊髓中持续存在,最终导致与人多发性硬化症相似的脱髓鞘疾病。遗传性分析揭示,这种现象源于 3 个不同基因座的改变:一个定位于 H2 座位,一个定位于 10 号染色体,包括 *IL-22* 和 *IFN- γ* 基因,还有一个位于 NeST。研究首先发现,SJL/J 小鼠易感染 THV 病毒,且其 T 细胞高表达 NeST,但杂交后对 THV 病毒获得抗性的 B10.S 品系小鼠,其 T 细胞 NeST 的水平显著降低。研究进一步发现,NeST 高表达可增强 B10.S 小鼠对 THV 病毒的易感性,同时也可降低沙门菌或 LPS 对小鼠的致死作用。

到此阶段,研究人员仍然不清楚到底是 NeST-lincRNA 还是其他基因调控机体对病毒和细菌感染的免疫应答。他们用 B10.S 小鼠的 NeST-cDNA 或 SJL/J 小鼠的 NeST-cDNA 构建了 B10.S-NeST 转基因老鼠,两种来源的 NeST 在 T 细胞中都能检测到,而且两种小鼠都表现出了对细菌的抵抗性以及 THV 病毒的易感性。他们进一步将焦点集中在与 NeST 基因相邻、且转录方向相反上的 *IFN- γ* 基因上,发现 B10.S 小鼠 CD8⁺ T 细胞表达高水平的 *IFN- γ* ,而 *IL-22* 的表达没有受到影响。Gomez 等研究还发现,NeST 能与 H3K4 甲基化转移酶复合体中的 WDR5(WD-repeat domain 5)相互作用,增强 *IFN- γ* 基因启动子区域 H3K4 甲基化水平。

该研究首次证明,lincRNA 在免疫效应细胞中通过影响表观修饰,调控机体对病毒或细菌的免疫应答。随着对 ncRNA 在哺乳动物进化及疾病发生发展中作用的关注,ncRNA 作为表观遗传学调控的新分子,已成为现代遗传学研究的热点。

[赵德志 摘译,李楠 审阅. Gomez JA, Wapinski OL, Yang YW, et al. Cell, 2013, 152(4): 743-754.]