

学校编码: 10384

密级 _____

学号: 24520091153014

厦门大学

硕士 学位 论文

**Menin 调控肝癌细胞表型的组蛋白甲基化特性
探讨**

**The histone methylation characteristics of tumor suppressor menin
regulate cellular phenotype in hepatocellular carcinoma**

郑 荣

指导教师姓名: 金光辉 教授

专业名称: 微生物学

论文提交日期: 2012 年 4 月

论文答辩日期: 2012 年 5 月

2012 年 4 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- () 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。
() 2. 不保密，适用上述授权。

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人（签名）

摘要

原发性肝癌是临幊上最常见的恶性肿瘤之一，据统计，在中国每年新发肝癌患者约三十六万，居恶性肿瘤的第二位。由于肝癌的发生是一个多因素、多途径协同作用的复杂过程，因此，至今仍缺乏对其有效的治疗及分子机制的认识。多发性内分泌肿瘤 1 型 (Multiple Endocrine Neoplasia Type1, MEN1) 是一种家族遗传性的肿瘤综合征，能够在多种内分泌器官中发生肿瘤。*MEN1* 编码新生蛋白 menin，在许多胚胎及成年组织中表达。研究发现，将小鼠体内 *Men1* 基因敲除，可导致胚胎 11.5-13.5 天的致死性，并且，肝脏组织中的上皮、造血细胞凋亡增加。胰岛素样生长因子 (IGF2) 是有 67 个氨基酸的多肽。在人体内，IGF2 为调节胚胎生长发育所必需的生长因子。肝脏发育过程中 IGF2 基因以启动子、甲基化程度、印迹状态等进行动态调节。在肝组织中的异常表达可能与肝细胞的癌变转化和肝癌细胞的自分泌、旁分泌调解机制有关。

本研究利用临床肝癌病理标本免疫组织化学检测发现，在肿瘤中 menin 的表达量明显高于癌旁组织，menin 高表达肝癌患者 AFP 的表达量明显高于 menin 表达无差异患者，提示 menin 与肝癌可能密切相关。在分子水平，以 Hep G2 和 HL-7702 细胞为研究模型，通过染色质免疫共沉淀(ChIP)、real-timePCR 等实验技术探讨了 menin 在肝癌发生过程中的作用及其分子机制。研究发现，menin 能够促进肝癌及正常肝细胞的增殖，并且，menin 也能够促进裸鼠荷瘤模型的肿瘤生长，在 DEN 诱导的小鼠肝损伤模型中 menin 表达量上调，表明，menin 在肝癌发生过程中扮演着促癌基因的角色。进一步通过 cDNA microarray 及 ChIP-on-chip 等分子生物学技术发现，menin 结合在 Yap1、IGF2 及各型胶原蛋白等与肝细胞功能调控密切相关的关键转录、生长因子启动子位点。ChIP 结果显示，menin 结合在 IGF2 启动子区，通过招募 MLL、Dot1L 等关键的组蛋白修饰酶上调 IGF2 启动子区的 H3K4、H3K79 组蛋白修饰，进而上调 IGF2 的表达。

本研究从细胞生物学及组学角度探讨了 menin 在肝癌发生过程中的生物学作用，以 IGF2 为代表，阐明了 menin 在肝癌系统中调控靶基因转录的组蛋白甲基化修饰特性及机制，为肝癌的治疗提供了新的理论基础。

关键词： 肝癌 menin IGF2 组蛋白调控

ABSTRACT

Primary liver cancer is the second most common malignancy, and currently results in 360,000 incident cases in China. The molecular mechanisms underlying hepatocellular carcinoma and effective systemic therapies remain unclear because of the complexity of its multi-step development process. Multiple endocrine neoplasia type1(MEN1) is an inherited tumor syndrome characterized by development of tumors multiple endocrine organs including the parathyroid glands, pancreatic islets. The *MEN1* gene product, menin, is expressed in many embryonic, as well as adult tissues. Disruption of the *Men1* gene in mice causes embryonic lethality at E11.5-E13.5, and livers generally displays an altered organization of the epithelial and hematopoietic compartments associated with enhanced apoptosis. IGF2 is located in chromosome 11 p15, there have been 67 of amino acid peptide. In the human body, IGF2 adjusts the growth and development of embryos necessary growth factors, can stimulate DNA and protein synthesis, and promote the role of mitosis. During the development of liver, IGF2 genes dynamically regulates the methylation degree, imprinting and so on. Abnormal expression of IGF2 may promote hepatocyte proliferation via a paracrine mechanism in the pre-cancerous stage. When hepatocytes are transformed into malignant cells, they may secrete IGF2 and promote malignant cell proliferation by an autocrine mechanism.

Our results indicated that menin expressed in hepatocellular carcinoma detected by immunohistochemistry. The expression of menin in tumor was significantly high than that in adjacent tissue, and the expression of AFP was high in this tumor, suggested that menin probably plays an important role in hepatocellular carcinoma. We studied the molecular mechanisms of menin on regulation of hepatocellular carcinoma in Hep G2 and HL-7702 cells using ChIP and real-timePCR and other molecular biology techniques. These results suggested that: menin promotes the proliferation of Hep G2 and HL-7702 cells, furthermore, the expression of increased in DEN-induced liver tissues,suggested that menin probably plays as a tumor promoter in hepatocellular carcinoma. In addition, cDNA microarray and ChIP-on-chip showed that menin could combine with the promoters of various growth factors,including Yap1、IGF2、IL-6 and so

on. ChIP results suggested that menin could influence the histone H3K4、H3K79 methylation of IGF2 promoters by recruiting MLL and Dot1L histone-modified enzymes.

Together, our studies conclusively revealed that menin plays a key biological function in the development of hepatocellular carcinoma and clarify the epigenetic regulation mechanism of IGF2 expression. This will provide a new treatment of hepatocellular carcinoma.

Key words: hepatocellular carcinoma; menin; IGF2; Histone regulate

目 录

中文摘要	I
英文摘要	II
第一章 绪论	1
 1 肝癌的表型分类及发生机制	1
1.1 肝癌的分类	1
1.2 肝癌的致病因素	2
1.3 肝癌模型的建立	2
1.4 肝癌的发生机制	3
1.4.1 IGF2	3
1.4.2 IKK β /NF- κ B	6
1.4.3 IL6/STAT3 信号通路	8
1.4.4 p53	9
1.4.5 其他基因	9
 2 menin 的生物学功能	12
2.1 menin 与甲状腺旁腺瘤	13
2.2 menin 基因与胰岛素瘤	14
2.3 menin 与白血病	14
2.4 menin 与其他肿瘤	15
 3 立题依据	15
第二章 材料与方法	17
 1 主要试剂及器材	17
1.1 试剂	17
1.2 器材	19
 2 仪器	19
 3 质粒与菌种	19
 4 细胞株	21
 5 临床肿瘤标本	21
 6 分子生物学方法	21
6.1 引物设计及合成	21

6.1.1 Real-time PCR 引物	21
6.1.2 ChIP 引物.....	22
6.2 重组质粒构建.....	22
6.2.1 全长质粒构建.....	22
6.2.2 干扰质粒构建.....	22
6.2.3 PCR 产物的 T 载体构建.....	24
6.3 感受态细胞的制备与转化.....	25
6.4 质粒扩增及其碱裂解法制备.....	25
6.5 逆转录 PCR/Real-time PCR 检测基因 mRNA 表达水平.....	26
6.6 Western Blot 检测基因蛋白水平表达.....	27
7 HE 染色.....	29
8 免疫组织化学.....	29
9 染色质免疫共沉淀(Chromatin Immunoprecipitation, ChIP).....	29
10 病毒包装与感染	33
10.1 逆转录病毒简介	33
10.2 病毒包装与感染	33
11 实验动物.....	34
第三章 实验结果.....	35
第一部分 menin 与临床肝癌病例	35
第二部分 menin 对肝癌生物学表型的影响	37
1 menin 对肝癌细胞增殖的影响	37
2 menin 对正常肝细胞增殖的影响	38
3 menin 对荷瘤模型的影响.....	39
第三部分 menin 在发生肝损伤过程中的作用	39
第四部分 menin 在肝癌发生过程中的调控机制	43
1 利用 cDNA microarray 筛选靶基因	43
2 menin 对 IGF2 的调控机制研究.....	48
3 menin 对 IGF2 受体的调控	49
第四章 讨论	53
参 考 文 献	57
致 谢	65

Table of Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English.....	II
Chapter 1 Introduction	1
1 Classification and mechanism of hepatocarcinogenesis.....	1
1.1 Classification of liver cancer.....	1
1.2 Etiological risk facotrs of liver cancer	2
1.3 Chemicals induced liver damage model	2
1.4 Mechanism of hepatocarcinogenesis.....	3
1.4.1 IGF2	3
1.4.2 IKK β /NF- κ B	6
1.4.3 IL6/STAT3.....	8
1.4.4 p53	9
1.4.5 Other genes.....	9
2 The biological function of tumor suppressor gene menin.....	12
2.1 The relationship between menin and parathyroid	13
2.2 The relationship between menin and pancreatic islets	14
2.3 The relationship between menin and leukemia	14
2.4 The relationship between menin and other diseases	15
3 Establishment.....	15
Chapter 2 Materials and methods	17
1 Main reagents and equipments	17
1.1 Reagents	17
1.2 Equipments.....	19
2 Instruments.....	19
3 Plasmids and strains.....	19
4 Cell lines	21
5 Clinical tumor specimens.....	21
6 Molecular biology methods.....	21
6.1 Primers design and synthesis	21
6.1.1 Real time-qPCR primers	21

6.1.2 ChIP primers	22
6.2 Recombinant plasmid construction	22
6.2.1 Construction of overexpression plasmid.....	22
6.2.2 Construction of shRNA plasmids.....	22
6.2.3 Construction of PCR production to T vector.....	24
6.3 Preparation of competent cells and transformation.....	25
6.4 Plasmids amplification	25
6.5 Detection of gene mRNA expression by RT-PCR/Real-time qPCR	26
6.6 Detection of gene protein expression by Western Blot	27
7 HE Stain.....	29
8 Immunohistochemistry....	29
9 Chromatin Immunoprecipitation.....	29
10 Introduction of retrovirus.....	33
10.1 Introduction of retrovirus	33
10.2 Virus packaging and infection.....	33
11 Experimental animals.....	34
Chapter 3 Results	35
Part 1 The correlation of menin and hepatocarcinogenesis.....	35
Part 2 The effect of menin on hepatocarcinogenesis phenotype错误！未定义书签。	37
1 The effect of menin on hepatocarcinogenesis proliferation .错误！未定义书签。	
2 The effect of menin on hepatocyte proliferation	38
3 The effect of menin on xenograft tumor	39
Part 3 The effect of menin on Chemicals-induced liver damage model	39
Part4 The mechanism of menin on hepatocarcinogenesis	43
1 Screening target genes by DNA microarray.....	43
2 The mechanism of menin on IGF2.....	48
3 The mechanism of menin on IGF2 receptors	49
Chapter 4 Conclusions	错误！未定义书签。
References	57
Acknowledgments.....	65

第一章 绪论

1 肝癌的表型分类及发生机制

1.1 肝癌的分类

原发性肝癌是临幊上最常见的恶性肿瘤之一，据统计，在中国每年新发肝癌患者约三十六万，居恶性肿瘤的第二位。进一步调查发现，男性的肝癌发病率及死亡率是女性的七倍，且具有一定的地域分布特征：东南沿海的死亡率高于内陆；长江入海口的死亡率又远高于沿海地区，并且高发地区都是温暖、潮湿的海洋性气候（图 1.1）^[1]。肝癌一般分为：原发性肝癌和转移性肝癌^[2]。转移性肝癌比原发性肝癌常见，肺癌、胃肠道肿瘤、乳腺癌、胰腺癌和恶性黑色素瘤表较容易形成肝转移的肿瘤，临幊上常见肿瘤大、体重下降、门脉高压及消化道出血的表现。原发性肝癌指发生于肝脏的上皮恶性肿瘤，一般包括肝细胞性肝癌（hepatocellular carcinoma）、胆管细胞癌（cholangiocarcinoma）和混合型肝癌（mixed primary carcinoma of liver）三种。肝细胞性肝癌常见于亚洲和非洲，男性比女性多见，临幊上常表现为腹痛、腹水、黄疸和肝脏肿大等；胆管细胞癌约占原发性肝癌的 20%，一般发生在老年，两性无明显差别；混合型原发性肝癌是具有肝细胞性肝癌和胆管细胞癌两种成分同时存在的肝癌，此仅占肝癌的不足 1%。原发性肝癌的发生是一个多级发展的复杂过程，大多数早期无显著临床症状，或者只有类似于肝病的一般症状，因而很难发现，一旦出现典型的临床表现，已属于中晚期，因此，至今对其仍然缺乏有效的治疗及相关分子机制的认识^[3]。



图 1.1 中国男性肝癌死亡率的分布特点

Fig 1.1 Map of liver cancer mortality for males in China

1.2 肝癌的致病因素

迄今为止，原发性肝癌的病因尚未能完全阐明，但主要的致病因素可分为如下几类。1.肝硬化，其特点为：弥漫性全肝性的小叶结构的破坏；弥漫的纤维组织增生；肝细胞再生形成不具有正常结构的假小叶。70%-90%的肝癌发生在肝硬化的基础之上，绝大多数为粗结节型，继发于酒精型肝病、白血病和胆汁性肝硬化者可为细结节型。2.病毒性肝炎，很多病毒均可导致肝脏的炎症，如：巨细胞病毒、EB 病毒、疱疹病毒等。在中国，慢性病毒性肝炎是原发性肝癌诸多致病因素中最主要病因，包括乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎等，乙肝病毒感染与肝癌的发生密切相关。人群中乙肝表面抗原的携带率与肝癌的发病率呈正比，慢性乙肝病毒感染的人群中肝癌的发生率是正常人群的 100 倍。根据临床数据显示，肝癌病人的血清中能检测到乙肝病毒感染标志的占 95%。病理资料分析发现，肝癌大多合并大结节性肝硬化，在我国这种肝硬化多由乙肝病毒感染所致。分子生物学研究证实在肝细胞癌的 DNA 中整合有乙肝病毒 DNA 的片断。3.酒精，在西方国家酒精导致的肝损伤是慢性肝病和肝硬化的主要原因，而肝硬化又使发生肝细胞癌的危险升高。4.黄曲霉毒素 B1，常出现在发霉的谷物中，尤其是花生等。动物实验证明黄曲霉毒素为很强的致癌物质，食物中黄曲霉毒素的含量增高，在慢性乙肝感染的情况下可使肝细胞癌的发生率增加 50 倍。5.遗传性代谢疾病，如糖原贮积病、遗传性酪氨酸血症、白血病、Wilson 等可发生肝细胞癌。6.其他，口服避孕药、有机的三氯乙烯溶剂、亚硝胺等均为值得重视的致癌因素^[4]。

1.3 肝癌模型的建立

与结肠癌、乳腺癌及恶性肾癌及其他主要类型的恶性肿瘤相比，对肝癌发生过程中起关键作用的原癌及肿瘤抑制基因得研究比较困难^[5]。自从 20 世纪初成功建立了小鼠自发性肝癌模型以来，对于肝癌动物模型的研究已逐渐深入，相继建立了多种肝癌相关的模型：如自发性、诱发型、移植性、转基因等肝癌模型。每种动物模型的特点及用途各有不同，可以根据研究的目的选择相应的动物模型。诱发性肝癌模型是指用化学、物理或生物的致癌因素作用于动物而形成的肝癌模型。诱发肝癌的化学物质可以分为以下几类：基因毒性类、非基因毒性类和其他。基因毒类致癌剂可以与 DNA 发生加成反应或者通过其他方法改变遗传信息，在致癌过程的初始阶段发挥重要作用；非基因毒性致癌剂则能够参与细胞凋亡，增加

自发突变率导致突变细胞的大量聚集。用二乙基亚硝胺 (DEN)、二乙酰氨基芴 (N-2-AAF) 等已知的化学致癌物质建立各种肝癌模型^[6]，目前被广泛用于癌变过程的机制研究。化学物质诱发肝癌的过程遵循经典的三阶段理论：启动 (initiation) -促进 (promotion) -演变 (progression)。DEN 为国际肿瘤研究中心机构 (International agency for research on cancer, IARC) 确定的致癌物质，对肿瘤的发生具有启动和促进的双重作用接近于人类肝癌的发病特点和过程，弥补了临床标本的不足，是一种较理想的研究人体肝癌发生的动物模型。用 DEN 诱导建立的小鼠肝癌模型，其一般过程为：肝细胞损伤、发生炎症→大量肝细胞变性、坏死→肝细胞再生、假小叶形成→肝脏反复增生、修复→肝硬化→形成肝癌^[7]。

1.4 肝癌的发生机制

信号通路是能将细胞外的分子信号经细胞膜传入细胞内发挥效应的一系列酶促反应通路，调控肝细胞正常生长、分化、增殖和凋亡，已成为肝癌诊断和发病机制的研究热点，及抗癌药物筛选和治疗中的关键靶点。

1.4.1 IGF2

1.4.1.1 IGF2 基本特征

IGF2 基因位于人染色体 11p15.5，全长 8837 bp。IGF2 基因编码的初始产物是由 156 个氨基酸残基组成的多肽链，之后经过一系列的翻译后修饰，成为一个由 67 个氨基酸残基组成的具有多种生物学功能的多肽^[8, 9]。人 IGF2 基因包括以下两个部分，即 9 个外显子 (E1-E9) 和 4 个启动子 (P1-P4)。9 个外显子中 5' 端的 6 个外显子 (E1-E6) 为非翻译序列，E7、E8 以及 E9 的第一部分编码 IGF2 前体蛋白，E9 的序列相对比较长，内含 2 个多聚 A (polyA) 附加信号^[10, 11]；4 个不同的启动子是组织生长和发育所必需的，在生长发育过程中，4 个启动子生物活性具有组织特异性，并且在发育阶段发挥生物学功能。在胎儿期只有 P2~P4 启动子有活性，并且呈单等位基因表达，出生 2 个月后，P1 启动子的活性逐步增加，到成人期达到高峰^[12]，呈双等位基因表达。

1.4.1.2 IGF2 表观遗传学调控

表观遗传学 (epigenetics) 是指基因表达或蛋白表达的改变不涉及 DNA 序列变化，但又可以通过细胞分裂和增殖而稳定遗传的现象，主要包括基因组印迹、

DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 等^[13]。IGF2 在小鼠胚胎发育过程中广泛表达，并且在胎盘生长过程中发挥重要作用^[14]。在调控胎盘发育过程的众多基因中，IGF2 属于印迹基因，即来源于亲本的两条染色体中只有父源等位基因表达。IGF2 基因在小鼠胚胎时期高表达，但出生后表达量急剧降低，在成年小鼠中 IGF2 基因只有在大脑脉络丛、软脑膜组织中呈双等位基因表达^[15]。在人类基因组中，IGF2 也属于印迹基因，只有在大脑脉络丛、软脑膜组织中以及视网膜发育过程中呈双等位基因表达^[16]。然而，在成人体内，受 P1 启动子活性影响，IGF2 仍然表达^[17]。

IGF2 与 H19 是最早发现的内源性印迹基因之一，二者紧密连锁，且共用位于 H19 启动子下游的增强子。在真核细胞 DNA 中，两者启动子区之间包含一个富含 CpG 寡核苷酸的区域，该区域能被甲基化。在父源染色体中，H19 启动子区被甲基化并且失去活性，此时 IGF2 启动子与 H19 下游增强子结合被激活，IGF2 表达量上调，并且这种甲基化和表达量的上调可以通过细胞分裂遗传给子代细胞^[18]。

在体细胞中母源染色体 IGF2 沉默，但启动子区并未被甲基化。原因是在 H19 启动子的上游存在 DNA 差异甲基化区（differentially methylated region, DMR），当 DMR 被删除，母源等位基因的 IGF2 就能被激活^[19]。这一区域也被称为印记调控区域（imprinting control region, ICR），进一步发现，在 ICR 区存在 CCCTC 黏附因子（CTCF），能够区别染色体上的活性区域与非活性区域^[20]。CTCF 黏附序列区富含 CG 寡核苷酸，当被甲基化时，能够抑制 CTCF 结合。因此，在父源等位基因上，H19 DMR/ICR 区呈高度甲基化时，不能结合 CTCF 蛋白形成绝缘子，下游增强子作用于 IGF2 启动子促使 IGF2 的表达。与之相反的是，在母源等位基因上，DMR/ICR 区呈未甲基化状态，CTCF 结合在启动子区形成绝缘子，阻止 IGF2 启动子与下游增强子结合，导致 IGF2 不表达（如图 1.2）^[21]。

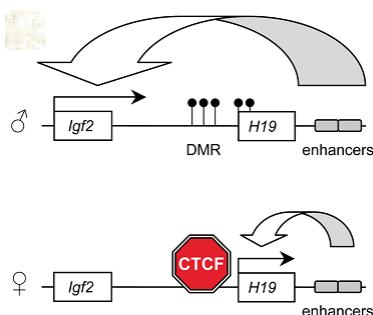


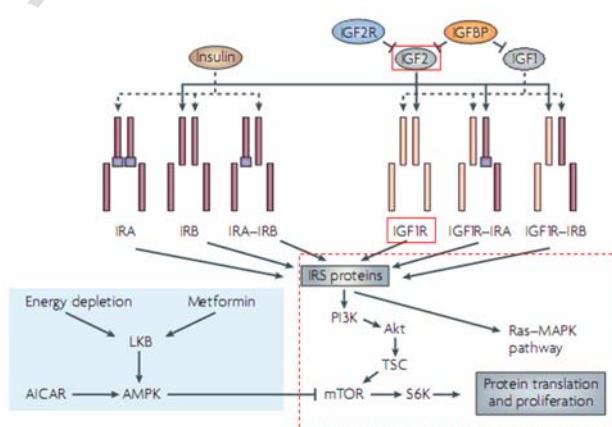
图 1.2 IGF2 与 H19 印记基因调控模式**Fig 1.2 Model of imprinted regulation at the IGF2 and H19 locus**

进一步研究表明，在小鼠胚胎发育过程中，特异性敲除父源染色体 IGF2 时，子代细胞只继承失活的母源等位基因并且出生小鼠生长受抑滞。而当 IGF2 过表达或者 H19 被敲除时^[22]，胚胎过度生长，小鼠呈畸形发育。并且无论是肿瘤组织（Wilms’ 瘤、乳腺癌、骨肉瘤、白血病、肺癌、肝癌和直肠癌）还是肿瘤细胞株（肺癌、直肠癌、乳腺癌、肝癌及前列腺癌）中均存在 IGF2 基因组印迹丢失的现象^[23]。

1.4.1.3 IGF2 的生物学功能

1.4.1.3.1 IGF2 与细胞生长和分化

IGF2 具有促进细胞有丝分裂的作用，几乎所有的细胞都表达胰岛素样生长因子 I 型受体 (IGF-1R)。当 IGF2 与 IGF-1R 结合时，可以激活受体酪氨酸激酶活性，导致其自身及胰岛素受体 I 型底物 (insulin receptor substrate 1, IRS-1) 磷酸化。磷酸化的 IRS-1 可以激活 Ras/Raf/MAPK 和 PI3-kinase/Akt 级联反应，刺激细胞增殖或分化（如图 1.3）^[24]。IGF2 在胚胎发育早期阶段有较高表达，出生后表达受抑制，表明，IGF2 在胚胎发育及中枢神经系统生长过程中起重要作用，另有研究表明，在肌肉及骨骼发育中 IGF2 也发挥重要的生物学功能，它可以促进肌细胞及骨骼细胞的增殖与分化^[25, 26]。

**图 1.3 IGF2 及其家族成员在细胞水平的信号通路****Fig 1.3 IGF2 and its family members signaling at the cellular**

1.4.1.3.2 IGF2 与血管发生

血管发生是肿瘤生长的重要因素之一，在体积较小的肿瘤中氧气、营养物质和代谢废物可以通过内、外部简单扩散，但在直径超过 1mm^3 的肿瘤中，这些物质需要血管来运输。缺氧能够诱导肿瘤血管因子的表达，以便促进周围组织血管中的血内流^[27]。血管内皮生长因子（Vascular endothelial growth factor, VEGF）能够促进正常组织及肿瘤新生血管生成，并且在肿瘤组织中表达量上调^[28]。研究发现，在肝癌中，HIFs 可以上调 IGF2 表达，进而使 IGF2 参与到肿瘤血管生成，上调 VEGF 的表达量；也有研究表明 IGF2 上调 VEGF，部分是通过上调 HIFs 的表达水平，表明：IGF2 与 HIF 的相互作用可以共同诱导 VEGF 的表达。在增生型糖尿病视网膜病变以及早产儿视网膜病变中，新生血管的形成也受到 IGF2 的影响。

1.4.1.3.3 IGF2 与肝癌

Norstedt, G 等发现，在肝癌及肿瘤前肝脏病灶中，P1 启动子失去活性，IGF2 受到 P2-P4 启动子的调控呈过表达状态^[29-35]。在乙型肝炎、丙型肝炎阳性的肝癌患者中，IGF2 表达量上调，并且 IGF2 的过表达与丙型肝炎的复制有关^[36]；Lee, Y. I 等发现，在乙肝病毒感染的肝癌患者中，再次感染黄曲霉毒素 B1 可以诱导 p53 在 249 位密码子（p53 mt249）发生突变，p53 mt249 可以通过 DNA 与蛋白以及蛋白与蛋白之间的相互作用影响 P4 启动子，导致 IGF2 的表达量上调^[37]。肝癌组织中 IGF2 表达量上调，IGFBP3 表达下降，IGFBP3 是促凋亡基因，可以抑制肿瘤形成^[38]。免疫组织化学结果发现，在小肝癌中可见 IGF2 呈强阳性表达，升高倍数可达 40~100 倍；另外 IGF2 与 HCC 分化程度有关，低分化肝癌中见强阳性表达。综合上述，IGF2 异常表达与肝病患者病情严重程度密切相关，但其复杂的调控机制尚待进一步研究^[39]。

1.4.2 IKK β /NF- κ B

NF- κ B 在多种组织细胞中广泛存在，是真核细胞转录因子 Rel 蛋白家族成员之一，包括 5 个亚单位：Rel (cRel)、RelB、p65 (RelA, NF- κ B3) 和 p50 (NF- κ B1)、p52 (NF- κ B2)。P65、cRel 和 RelB 分含有 N 端 Rel 同源区 (Rel homology domain, RHD) 和 C 端的反式激活结构域 (transactivation domain, TD)，与转录活化相关。在 RHD 的 C 末端有一个核定位区域 (nuclear-localization sequence, NLS)，主要参与 DNA 结合、二聚体化和核易位等活动^[40]。最常见的 NF- κ B 二聚体是 p65 与 p50 组成的异二聚体。I κ B 是 NF- κ B 的抑制单位，

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库