

学校编码: 10384

密级\_\_\_\_\_

学号: 24520130154318

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

**TNFAIP8 家族在胃癌中的机制及功能研究**

**Functions and associated mechanisms of Human tumor  
necrosis factor-alpha-induced protein 8 family during  
gastric cancer carcinogenesis**

刘文明

指导教师姓名: 齐忠权 教授

专 业 名 称: 生理学

论文提交日期: 2016 年 5 月

论文答辩日期: 2016 年 5 月

2016 年 5 月

INPAP8 家族在胃癌中的机制及功能研究

刘文明

指导老师

齐忠权教授

厦门大学

## 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）：

年    月    日

## 中文摘要

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤，在世界范围内，胃癌的发病率居恶性肿瘤的第四位，死亡率居恶性肿瘤的第二位。胃癌发生、发展涉及多因素、多步骤、多基因参与的复杂过程，迄今为止，胃癌的病因和发病机制尚未完全阐明。因此，对胃癌发病机制、在不同分子途径在肿瘤发生发展中的作用机制的研究，寻找特异性的生物标志分子，对于早期发现胃癌和探寻新的治疗方法，进而提高胃癌患者生存率和提升生活质量具有重要意义。

TNFAIP8 家族是由肿瘤坏死因子  $\alpha$  诱导产生的一个蛋白质家族，参与多种生物学过程，并在许多疾病特别是自身免疫性疾病和肿瘤的发生、发展中发挥重要的作用，TNFAIP8、TIPE2、TIPE3 是其中的重要成员。TNFAIP8 是转录因子 NF- $\kappa$ B 可诱导的抗凋亡，致癌分子。TIPE2 是体内维持免疫动态平衡的必需蛋白之一，在机体固有免疫应答和适应性免疫应答过程中发挥负向调控效应，参与某些免疫相关疾病的发生和发展。TIPE3 可作为脂质转运蛋白参与肿瘤的发展。然而，TNFAIP8 家族成员在胃癌发生发展过程中的作用和机制尚未明确。

我们的研究发现，TNFAIP8mRNA 及蛋白在胃癌组织中的表达明显高于正常组织；TIPE2 的 mRNA 和蛋白在胃癌组织中的表达明显低于正常组织，且与肿瘤的分期、分化、淋巴结转移有关；TIPE3mRNA 在胃癌组织中的表达明显低于正常组织，但与肿瘤的分期、分化、淋巴结转移无关。我们进一步构建了稳定干扰 TIPE2 的 SCG7901 细胞及 BGC823 细胞，结果表明，干扰了 TIPE2 表达后促进了 LPS 刺激的胃癌细胞增殖，并影响细胞周期 S 期，其主要功能是通过 PI3K-AKT、NF- $\kappa$ B 信号通路和细胞周期进行调控。本文的研究揭示了 TNFAIP8 作为促癌基因具有促进胃癌发生发展的作用，TIPE2 作为抑癌基因可以抑制胃癌细胞的增殖，且通过抑制 AKT、I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸化及下调 CDK4、CyclinD3 来发挥作用。提示 TNFAIP8 家族可能是肿瘤治疗的一个新的潜在靶点。

**关键词：**TNFAIP8 TIPE2 胃癌增殖

## Abstract

Gastric cancer(GC) is a leading cause of global cancer mortality responsible for 700000 deaths annually, and still highly prevalent in many parts of Asia, Eastern Europe and South America. Most patients with GC are diagnosed at advanced disease stages, and overall 5-year survival rates for patients with resectable GC remain low at 10-30% despite clinical advances in surgery and therapy. The elucidation of molecules and signaling pathways that drive aggressive and metastatic gastric cancer is likely to offer new avenues for an early identification and therapeutic intervention of gastric cancer.

Tumor necrosis factor (TNF)-alpha-induced protein 8 (TNFAIP8 or TIPE) family is recently identified as a critical protein for maintaining immune homeostasis and tumorigenesis. The mammalian TNFAIP8 family consists of three members: TNFAIP8, TIPE2, and TIPE3. Among the members, TNFAIP8 promotes tumor growth and metastasis. TIPE2 regulates both carcinogenesis and inflammation, and its germline deletion leads to fatal inflammatory diseases. TIPE3 can act as a lipid transfer protein and promotes tumorigenesis. But the role of TNFAIP8 family in gastric cancer has only been assessed in a few studies.

Our study found that the expression of TNFAIP8 in tumor tissues of gastric cancer was significantly higher than para-carcinoma tissues ( $P < 0.05$ ), TIPE2 and TIPE3 in tumor tissues of gastric cancer was significantly lower than para-carcinoma tissues ( $P < 0.05$ ). Furthermore, we successfully established human SGC7901 cell lines and BGC823 cell lines in which TIPE2 was stably knockdown. We demonstrated that the downregulated expression of TIPE2 promoted cell proliferation stimulated by LPS. Downregulated TIPE2 expression accelerated AKT, I $\kappa$ B $\alpha$  activation and increased S phase proportion in SGC7901 and BGC823 cells. These results suggest that TNFAIP8 family may be a new potential target for tumor therapy.

**Keywords:** TNFAIP8; TIPE2; gastric cancer

# 目 录

中文摘要.....	I
Abstract.....	II
第一章 前言.....	8
第一节 胃癌的研究进展.....	8
1.1.1 概述.....	8
1.1.2 HP 与胃癌.....	8
1.1.3 干细胞与胃癌.....	10
1.1.4 胃癌相关信号转导途径.....	11
1.1.5 胃癌的表观遗传学.....	14
第二节 TNFAIP8 家族蛋白与肿瘤相关性的研究进展.....	17
1.2.1 TNFAIP8 家族成员的结构与组织分布.....	17
1.2.2 TNFAIP8 家族成员在肿瘤发生发展中的作用.....	19
第三节 本课题研究的目的是与意义.....	23
第二章 TNFAIP8 家族在胃癌中的表达情况研究及临床分析.....	24
第一节 材料和方法.....	24
2.1.1 胃癌患者组织标本.....	24
2.1.2 主要试剂及耗材.....	24
2.1.3 主要仪器及设备.....	25
2.1.4 试剂与药品.....	26
第二节 实验方法.....	26
2.2.1 RNA 提取.....	26
2.2.2 逆转录 RT-PCR.....	28
2.2.3 免疫组织化学法测定胃癌患者组织中 TNFAIP8、TIPE2 表达情况.....	29
2.2.4 统计学分析.....	30
第三节 结果与分析.....	31
2.3.1 RT-PCR 方法检测胃癌患者肿瘤组织中 TNFAIP8 表达情况.....	31
2.3.2 免疫组织化学法检测胃癌患者肿瘤组织中 TNFAIP8 蛋白表达情况.....	31
2.3.3 RT-PCR 方法检测胃癌患者肿瘤组织中 TIPE2 表达情况.....	33
2.3.4 免疫组织化学法检测胃癌患者肿瘤组织中 TIPE2 蛋白表达情况.....	34
2.3.5 RT-PCR 方法检测胃癌患者肿瘤组织中 TIPE3 表达情况.....	35
第四节 讨论.....	37

<b>第三章 TIPE2 干扰质粒的构建及干扰细胞株的建立</b> .....	<b>39</b>
<b>第一节 材料和方法</b> .....	<b>39</b>
3.1.1 细胞、菌株、质粒 .....	39
3.1.2 实验所用引物 .....	39
3.1.3 主要试剂及耗材 .....	39
3.1.4 主要仪器及设备 .....	40
3.1.5 主要溶液的配置 .....	41
3.1.6 实验方法 .....	44
<b>第二节 结果与讨论</b> .....	<b>51</b>
3.2.1 pU6 质粒图谱和酶切位点 .....	51
3.2.2 TIPE2 重组质粒阳性克隆的鉴定 .....	52
3.2.3 干扰质粒测序结果比对 .....	52
3.2.4 胃癌细胞 TIPE2 的表达及干扰效果验证 .....	52
3.2.5 讨论 .....	53
<b>第四章 TIPE2 表达下调在体外促进胃癌细胞的增殖机制的探讨</b> .....	<b>54</b>
<b>第一节 材料和方法</b> .....	<b>54</b>
4.1.1 质粒、细胞株 .....	54
4.1.2 主要试剂及耗材 .....	54
4.1.3 主要试剂及耗材 .....	55
4.1.4 主要溶液的配置 .....	56
4.1.5 实验方法 .....	59
<b>第二节 结果与分析</b> .....	<b>63</b>
4.2.1 CCK-8 法检测 TIPE2 干扰后胃癌细胞的增殖 .....	63
4.2.2 EdU 法检测 TIPE2 干扰后胃癌细胞的增殖 .....	64
4.2.3 流式细胞仪检测 TIPE2 干扰后对胃癌细胞细胞周期的影响 .....	65
4.2.4 TIPE2 通过 PI3K-AKT、NF- $\kappa$ B 信号通路及细胞周期蛋白 CDK3、cyclinD3 影响细胞增殖 .....	67
<b>第三节 讨论</b> .....	<b>68</b>
<b>附录</b> .....	<b>73</b>
<b>参考文献</b> .....	<b>74</b>
<b>致谢</b> .....	<b>85</b>



## Table of Contents

<b>Abstract in Chinese</b> .....	II
<b>Abstract in English</b> .....	III
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	8
<b>Section1 Researching progress of gastric cancer</b> .....	8
1.1.1 Overview.....	8
1.1.2 HP and gastric cancer.....	8
1.1.3 Stem cells and gastric cancer.....	10
1.1.4 Molecular mechanisms of gastric cancer.....	11
1.1.5 Epigenetics of gastric cancer.....	14
<b>Section2 TNFAIP8 family in cancer diseases</b> .....	17
1.2.1 TNFAIP8 family structure and tissue distribution.....	17
1.2.2 TNFAIP8 and tumor.....	19
<b>Section3 Purpose and Significance of this thesis</b> .....	23
<b>Chapter 2 Analysis of expression of TNFAIP8 family in patients gastric cancer tissues</b> .....	24
<b>Section1 Materials</b> .....	24
2.1.1Samples of human tumor and normal tissues.....	24
2.1.2Main reagents and consumptive material.....	24
2.1.3Primary instruments and equipments.....	25
2.1.4Primary solution making.....	26
<b>Section 2 Methods</b> .....	26
2.2.1Extraction of RNA.....	26
2.2.2 RT-PCR.....	28
2.2.3Expression of TNFAIP8 and TIPE2 protein in human gastric cancer detect by immunohisochemistry.....	29
2.2.4Statistical method to deal with expreimental datas.....	30
<b>Section3 Results and analysis</b> .....	31
2.3.1 Expression of TNFAIP8 mRNA in human gastric cancer detect by RT-PCR.....	31
2.3.2 Expression of TNFAIP8 protein in human gastric cancer detect by	

immunohistochemistry.....	31
2.3.3 Expression of TIPE2 mRNA in human gastric cancer detect by RT-PCR.....	33
2.3.4 Expression of TIPE2 protein in human gastric cancer detect by immunohistochemistry.....	34
2.3.5 Expression of TIPE3 mRNA in human gastric cancer detect by RT-PCR.....	35
<b>Section 4 Discussion.....</b>	<b>37</b>
<b>Chapter 3 Construction of TIPE2 knockdown cell line.....</b>	<b>39</b>
<b>Section 1 Materials and method.....</b>	<b>39</b>
3.1.1 Cell line and plasmid.....	39
3.1.2 Primers.....	39
3.1.3 Main reagents and consumptive material.....	39
3.1.4 Primary instruments and equipments.....	40
3.1.5 Primary solution making.....	41
3.1.6 Methods.....	44
<b>Section 2 Results and discussion.....</b>	<b>52</b>
3.2.1 The profiles and restriction enzyme sites of pU6 plasmid.....	52
3.2.2 Screen the positive recombinant TIPE2 plasmid.....	52
3.2.3 Compare the TIPE2 sequencing results.....	53
3.2.4 Knockdown TIPE2 recombinant plasmid identified and sequencing.....	53
3.2.4 Discussion.....	54
<b>Chapter 4 Knockdown TIPE2 promote cell proliferation mechanism in vitro.....</b>	<b>55</b>
<b>Section 1 Materials and methods.....</b>	<b>55</b>
4.1.1 Cell line and plasmid.....	55
4.1.2 Main reagents and consumptive material.....	55
4.1.3 Primary instruments and equipments.....	56
4.1.4 Primary solution making.....	57
4.1.5 Methods.....	59
<b>Section 2 Results and analysis.....</b>	<b>64</b>
4.2.1 CCK-8 detect knockdown TIPE2 SGC7901 and BGC823 cells proliferation.....	64
4.2.2 EdU detect knockdown TIPE2 SGC7901 and BGC823 cells	

proliferation .....	65
4.2.3 Flow cytometry detect knockdown TIPE2 SGC7901 and BGC823 cells cycle.....	66
4.2.4 TIPE2 inhibit the development of gastric cancer via PI3K-AKT, NF- $\kappa$ B and cell cycle proteins.....	68
<b>Section3 Discussion</b> .....	69
<b>Appendix</b> .....	74
<b>Reference</b> .....	75
<b>Acknowledgement</b> .....	86

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 第一章 前言

### 第一节 胃癌的研究进展

#### 1.1.1 概述

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一，目前在世界范围内，恶性肿瘤中，胃癌发病率居第四位，死亡率居第二位<sup>[1]</sup>。我国是胃癌高发区，每年新发病例占全球的 40%<sup>[2]</sup>，在我国恶性肿瘤发病率和死亡率中，胃癌分别居第二位和第三位<sup>[3]</sup>，到目前为止，胃癌的病因和发病机制等尚未完全阐明，这是个涉及多因素、多基因、多步骤参与的复杂过程。目前缺乏特异而有效的筛选指标，大多数患者就诊时就已经进入进展期，这类患者手术和放化疗效果欠佳，尤其晚期患者预后极差。

如果早期发现胃癌并及时规范治疗，预后较良好，5 年的生存率可以达到 90% 以上，但若未能早期诊断，进展期的胃癌中约 85% 的患者可以手术治疗，5 年生存率则低至 20%~30%<sup>[4]</sup>。胃癌细胞增殖、侵袭、转移及耐药是导致其不良预后的重要原因，胃癌治疗的突破依赖于对胃癌发生发展复杂分子机制的深入探索。因此，对胃癌发病机制、在不同分子途径在肿瘤发生发展中的作用机制的研究，寻找特异性的分子生物标志，对于早期发现胃癌，探寻新的治疗方法，进一步提高胃癌患者生活质量以及生存率具有重要意义。

#### 1.1.2 HP 与胃癌

胃癌的发生是一个多种危险因素参与的复杂过程，人口学因素、遗传因素、感染因素、生活饮食因素、心理因素、经济社会因素等在其发生和发展过程中起着重要作用，其中幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*, HP）感染与胃癌的发生较明确地有密切的联系<sup>[5]</sup>，据统计，每年中，75% 的新发胃癌病例与 HP 有关<sup>[6]</sup>。HP 引起胃癌的模式，经过正常胃黏膜、慢性胃炎、萎缩、肠化生、异型增生至胃癌的一系列过程<sup>[7]</sup>。

流行病学调查表明，全球各地均有不同程度的 HP 感染，发病率为 23.5%~79.4%<sup>[8]</sup>，HP 感染引起的慢性胃炎是最强的引起胃癌的危险因素。HP 最典型的毒力基因代表是细胞毒素相关基因 A 蛋白（CagA）、空泡毒素 A（VacA）

和血型组抗原结合黏附素 (BabA)。

Cag A 是 HP 较重要的毒力因子, 目前研究较多较广泛, 60%~70%的西方 HP 菌株和几乎 100%的东亚菌株表达 Cag A。Cag A 可干扰多种宿主信号通路, 一方面, 被 CagA 上调的信号被整合直接致癌; 另一方面他们造成遗传的不稳定性。CagA 在诱导胃癌发生过程中通过一种“打了就跑”的机制, 在 Cag A<sup>+</sup> HP 长期的感染过程中, 通过遗传或表观遗传改变编译肿瘤易感细胞使之癌变<sup>[9]</sup>。另外, CagA 能通过诱导精胺氧化酶 (spermine oxidase, SMO) 生成导致细胞的氧化 DNA 损伤, 使这些细胞亚群抗细胞凋亡, 发生胃恶性肿瘤风险增高<sup>[10]</sup>; CagA 还可能通过上调磷脂酶 D1 的表达诱导 NF- $\kappa$ B 激活, 并通过促进 ERK 通路下游信号级联细胞异常而导致胃癌的发生<sup>[11][12]</sup>。

Vac A 是最强的毒力基因, 所有的 HP 都有 Vac A 基因, 这与 Cag A 有所不同, 但其功能性的表达不同。Vac A 基因是由 HP 通过 V 型运输分泌系统分泌的一种 88kDa 的蛋白质, 由 P33 和 P55 亚基组成<sup>[13]</sup>。与宿主细胞结合并内化造成“空泡化”集合的大囊泡, 增大破裂后释放水解酶可导致细胞死亡, 进而细胞凋亡加强。Vac A 通过引起胃黏膜细胞程序化坏死, 并且以释放促炎症蛋白高迁移率族蛋白 1 (high-mobility group box 1 protein, HMGB1) 的方式促进 HP 诱导的人胃黏膜炎症, 可能是胃癌和消化性溃疡的发病机制之一<sup>[14]</sup>。VacA 除了具有空泡化作用, 还能直接影响线粒体功能。Vac A 如何进入线粒体目前了解甚少, Vac A 是通过一个未知的机制以诱导细胞凋亡。许多观点认为 P33 和 P55 需要在线粒体膜内形成阴离子选择性通道, 大多研究仅表明 P33 能够独立于 P55 形成稳定的细胞膜通道<sup>[15]</sup>。但最近有研究显示, P55 可以间接上调促凋亡因子诱导细胞凋亡, 进一步增加了不确定性<sup>[16]</sup>。

BabA 是一种外膜蛋白, 起黏附分子的作用, 在 40% ~ 95% 的 HP 菌株表达。感染 BabA 阳性菌株后胃内细菌定植密度增加, 并通过增高 IL-8 水平导致了炎症加重。BabA 在胃上皮细胞的表面结合岩藻糖基聚糖, 如路易斯乙血型抗原 (Leb), 影响宿主黏膜的糖基化方式, 使 HP 适应并长久定植于宿主<sup>[17]</sup>。BabA-Leb 相互作用不仅对 HP 黏附于宿主细胞表面非常重要, 而且有助于在细胞表面锚定细菌分泌系统, 使细菌毒力因子有效的注入细胞中。因此, HP 能通过 BabA-Leb 结合触发 IV 型分泌系统依赖的宿主细胞信号诱导基因转录, 增加炎症, 肠化生的发展以及癌前病变的转化<sup>[18]</sup>。

HP 作为胃癌最重要的致癌因子已经被广泛研究几十年, HP 感染十分普遍, 但只有很少一部分人最终发展为胃癌。感染 HP Cag A+菌株, 特别是有高数量的 EPIYA C 基序; 以及 Vac A 的 s1, m1 和 i1 菌株<sup>[19]</sup>, 被认为增加患胃癌的风险。识别高危因素、及时将 HP 根除并进行随访, 可以将胃癌的发病率降低, 现阶段全球可以采用筛查而后治疗的方法用于胃癌的预防。HP 与胃癌的关系密切, 对 HP 的探索究为研究胃癌的发病机理及其防治提供了一个好的方法。

### 1.1.3 干细胞与胃癌

肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 是肿瘤中具有自我更新能力, 并能产生异质性肿瘤细胞的细胞。它使体内肿瘤不断扩大或形成新的肿瘤细胞。肿瘤的形成、发展和转移中肿瘤干细胞发挥着重要的作用<sup>[20]</sup>。肿瘤干细胞的研究一度成为热点, 目前已经在许多不同种类的肿瘤中鉴定出肿瘤干细胞。

胃黏膜是组织学上的复合体, 是由定位在胃底和胃窦的不同区域的多能干细胞维持的。研究表明, 胃癌细胞可能来源于正常存在的干细胞或骨髓起源的细胞。Takaishi 等首先在无血清培养基中培养富含 CD44 的胃癌细胞系, 之后产生球形克隆, 然后将其植入重症联合免疫缺陷的小鼠皮下, 这些小鼠在几个月后形成胃癌移植瘤, 该研究提示胃癌细胞系中的确是存在肿瘤干细胞的<sup>[21]</sup>。作为胃癌起始细胞, 胃癌干细胞可能具有器官特异性并且来源于寄居在胃腺中的正常干细胞的恶性转化, 或者来源于遭受基因突变后更进一步分化的祖细胞<sup>[22]</sup>。

骨髓干细胞 (bone marrow stem cells, BMSCs) 也是胃癌干细胞的来源之一。具有一定程度可塑性的成人 BMSC 不仅在血液和骨髓中存在, 还可以通过外周器官迁移到炎症或组织损伤点。对 HP 感染的 C57BL/6 小鼠模型进行致死量放疗后, 将表达  $\beta$ -半乳糖苷酶的转基因小鼠的骨髓输入, 使用半乳糖苷酶染色, 用于追踪骨髓细胞, 结果得出在感染 HP 后, BMSCs 能定植并重新填充到胃黏膜, 随着时间的推移能够发生化生、异型增生及癌变。定植的 BMSCs 既表达 BMSCs 分子标志物, 又表达胃腺体上皮标志物, 其机制可能是慢性炎症反应时胃中细胞因子对 BMSCs 具有诱导作用<sup>[23]</sup>。BMSCs 可能可以通过细胞融合、细胞模拟或直接异常分化最终引起胃癌发生。当基因变异积累到一定程度, 胃腺中的干细胞与骨髓来源的成人干细胞能够发生增殖融合。

Takaishi 等通过对人胃癌细胞系(NCI-N87, AGS, MKN-28, MKN-45, MKN-74)

的检测,发现 CD44 可以作为一个潜在的胃癌干细胞的标志物<sup>[24]</sup>。此外, Zhang 等研究提示 CD44+/CD24+也可以用作于胃癌干细胞的标志物<sup>[25]</sup>。Liu 等发现从胃癌细胞系 MKN-45 形成的悬浮的球状体,在干细胞的培养条件下,具备胃癌干细胞的特征,与 MKN-45 相比,球状体能持续自我更新、高增殖、抗药、高表达肿瘤干细胞的标志物,如 Nanog、Oct4、CD44 和 Sox<sup>[26]</sup>。

虽然上述分子可能为胃癌干细胞的标记物,但并不是特异的,因为还缺乏特异性表面标记物,对胃癌干细胞的分离、起源、鉴定及进一步靶向治疗的研究造成困难。胃癌干细胞的分离、纯化、扩增尚未解决,仍无确切的与胃癌干细胞相关的信号转导途径。未来的研究将会致力于胃癌干细胞的确认和描述,并用于胃癌患者的诊断、治疗和判断预后以及随访。

### 1.1.4 胃癌相关信号转导途径

胃癌的发生过程复杂,涉及许多诱因、许多基因和繁复的步骤,包括一些经典与癌症相关信号通路的改变,多个信号转导通路的失调与胃癌的发生及结局有关。以下是胃癌中研究较多的信号转导途径。

#### 1.1.4.1 Notch 信号通路

Notch信号系统是一个高度保守的、重要的机制系统,它可以调节多个细胞生长发育过程,如细胞增殖、细胞分化以及细胞凋亡,在癌变过程中,它是一个重要的信号转导通路。Notch信号途径包括Notch、Notch配体和CSL等<sup>[27]</sup>。Notch信号转导过程的特点是可以直接接受临近细胞的信号并传到细胞核,激活相关转录因子的表达,但并不需要第二信使和蛋白激酶的参与,也并不能放大信号,然而在细胞分化起始过程的精确调控中,它是十分必要的。研究表明,Notch1信号通路的激活可以通过COX-2的作用促进胃癌的进展。研究表明,Notch1受体的胞内结构可通过与COX-2启动子直接结合,从而增强COX-2的表达。在胃癌中,Notch1 的活性可能是通过其配体 DLL1的后生沉默调节,而 Notch1 抑制与弥漫型胃癌相关联<sup>[28]</sup>。另外,Notch信号还可以通过表达Twist和STAT3促进胃癌的发展<sup>[29]</sup>。

#### 1.1.4.2 PI3K-AKT-mTOR 信号通路

磷脂肌醇3-激酶(phosphoinositide-3 kinase, PI3K)-蛋白激酶 B(protein kinase

B, PKB, 又称 AKT)- 雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路可以对细胞内很多正常地细胞活动比如细胞增殖、细胞存活、细胞迁移等进行调节, 它是一条典型和研究较多的促存活以及抗凋亡的信号转导通路<sup>[30]</sup>。

早在上世纪90年代, PI3K信号就被视为一条与病毒癌基因密切相关的信号通路。近年来, 人们发现在所有的散发性肿瘤中这条信号通路最常见。既往发现在肾癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌等实体瘤, 以及血液系统肿瘤如淋巴瘤中这条信号通路均发生异常。PI3K信号通路可以通过激活RTK和Ras, 进而活化下游的靶蛋白mTOR<sup>[31]</sup>。

胃癌与其他肿瘤相似, PI3K/AKT/mTOR通路也存在异常。与癌旁正常组织相比, 胃癌组织中AKT与PI3K的表达水平明显升高, 且其升高水平与肿瘤分期等有关<sup>[32]</sup>。胃癌标本中, 磷酸化AKT水平明显升高, 并且与肿瘤的生长和远处转移有关<sup>[33]</sup>。同样, 针对胃癌标本检测mTOR及PTEN的表达, 发现mTOR升高而PTEN明显下降, 即PTEN的丢失和mTOR的激活在胃癌的发生发展中起了很大的作用<sup>[34]</sup>。关于PIK3CA的研究, 有学者对胃癌中PIK3CA基因进行检测, 发现该基因的突变率约是4.3% ~8.7%, PIK3CA基因的扩增率高达67.0%, 远远超过了它的突变率, 同时研究中还发现, 存在PIK3CA基因扩增的患者生存期短于无扩增的患者<sup>[35]</sup>。综上所述, PI3K/AKT/mTOR通路在胃癌组织中的过度激活, 在胃癌的发生和进展中起着重要的作用, 为以这条通路中的相关蛋白为靶点, 可以为胃癌的治疗开辟新的途径。

### 1.1.4.3 NF- $\kappa$ B 信号通路

NF- $\kappa$ B是1986年从B细胞细胞核的抽提物中找到的转录因子, 这类转录因子能够特异地识别DNA的蛋白二聚体并与之结合, 在细胞内外的各种刺激刺激下, 可使NF- $\kappa$ B磷酸化和泛素化继而失活, 使得NF- $\kappa$ B释放、激活后进入细胞核内, 之后可以特异性地与靶基因上的顺式调节元件 $\kappa$ B位点结合, 从而对一系列抗凋亡基因和促生长基因的表达进行调控<sup>[36]</sup>。通常情况下, 在细胞质中的NF- $\kappa$ B处于失活状态, 与抑制蛋白I $\kappa$ B形成三聚体复合物。当出现TNF- $\alpha$ 信号、炎症因子及LPS、紫外线等外界刺激时, I $\kappa$ B从三聚体中解离出来, 经泛素化修饰后通过蛋白酶体降解。于是受其抑制的NF- $\kappa$ B得以暴露其核定位序列, 迅速从细胞质进入细胞核内, 从而启动或增强相关基因的转录, 对炎症及肿瘤生长过程中的信息传



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts 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](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.