

35.

[21] 王靓,侯晓燕,黄金玲,等. 苓桂术甘汤对慢性心衰模型大鼠心肌组织 TNF- α 及血清 NF- κ B 和 IL-1 β 的影响[J]. 中草药, 2013, 44(5):586-589.

[22] 高风华,白静,吕华. 荞麦花叶总黄酮对阿霉素致心力衰竭大鼠的保护作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(7): 185-188.

[23] 靳利利,袁丁,史振羽,等. 加味参附颗粒对慢性心力衰竭大鼠心

肌超微结构的影响[J]. 中国中医急症, 2014, 23(4):602-604.

[24] 唐燕萍,蔡虎志,刘尚,等. 温阳振衰颗粒对慢性充血性心力衰竭模型兔 NT-proBNP、IL-1 及 IL-6 的影响[J]. 湖南中医杂志, 2014, 30(11):151-153.

[25] 吉利,张艳. 益气通脉饮对慢性心力衰竭大鼠心功能及血清 TNF- α 、IL-6、TGF- β 1 水平的影响[J]. 西部中医药, 2015, 28(5):25-27.

(收稿日期:2015-12-28)

• 综 述 •

转录因子 Sp1 与 AP-2 的研究进展*

杜叶平,武春梅 综述,苗晋华 Δ 审校

(中国人民解放军第二六四医院检验科,山西太原 030001)

关键词: 转录因子特化蛋白 1; 转录因子激活蛋白-2; 肿瘤; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)08-1094-03

转录因子是能与位于转录起始位点上游 50~5 000 bp 的顺式作用元件、沉默子或增强子结合并参与调节靶基因转录效率的一组蛋白,并能将来自细胞表面的信息传递至核内基因。转录因子通常有几个功能域,可分为 DNA 结合域、转录调控域及自身活性调控域,DNA 结合域可与特定的 DNA 序列(一般长 8~20 bp)相互作用,使转录因子与靶基因中特定转录因子结合位点结合起来,进而转录调控域就可发挥其激活或抑制作用。

1 转录因子特化蛋白 1(Sp1)和转录因子激活蛋白-2(AP-2)基因结构特点及相互作用机制

转录因子在恶性肿瘤的发病机制中起重要作用,可作为一个新的治疗靶点。AP-2 家族由 5 个相对分子质量为 52 \times 103 的亚型(AP-2 α 、AP-2 β 、AP-2 γ 、AP-2 δ 和 AP-2 ϵ)组成,具有独立编码基因。5 个亚型具有共同的结构,N 末端有富含脯氨酸/谷氨酸的转录激活独立影响细胞的分化和发展,以及促进或抑制癌症的发生发展^[1]。

转录因子 Sp1 是首个被证实的 Sp1/Krüppel 家族成员,DNA 结合区域在 Sp 家族中是最保守的。Sp1 的 DNA 结合区域包含 3 个 Cys2His2 锌指结构,突变分析显示锌指结构 2 和 3 在 DNA 结合活性起重要作用。Sp1 可以通过磷酸化、乙酰化、糖基化、甲基化等多种翻译后修饰,调控编码蛋白和非编码基因等多种基因的表达和活性^[2]。在真核基因表达过程中,经常会发生转录干扰的现象,即一个转录因子过表达导致另一个转录因子的表达受到抑制。AP-2 抑制 Sp1 依赖的转录活性解释为三种模型:(1)立体位阻模型:AP-2 通过 Sp1 特异的立体干扰机制,干扰 Sp1 基因的转录起始活性,进而抑制 SP1 启动子活性;(2)相互作用模型:Sp1 与 AP-2 相互作用影响 Sp1-DNA 复合体结构;(3)竞争模型:AP-2 与 Sp1 的结合位点有重叠,AP-2 竞争性抑制 Sp1 结合位点^[3]。

2 转录因子 Sp1 与 AP-2 在不同肿瘤中的作用

肿瘤的发生发展依赖的因子,包括生长因子及其受体、细胞外基质蛋白类、蛋白类、炎症趋化因子、细胞黏附分子等。这些因子的表达受外环境和微环境的影响,受基因和外界因素的

影响。

转录因子 AP-2 α 在细胞分化发生中调节一些基因的表达情况。因此,AP-2 α 的表达缺失可能会导致细胞的分化、增殖、侵袭和转移。有研究报道显示,在胃癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、和一些其他的一些恶性肿瘤中,AP-2 α 具有肿瘤抑制作用^[4-10]。

在哺乳动物和细菌中,Sp1 是第一个被鉴定克隆的转录因子和特异性 DNA 结合蛋白,Sp1 是一种普遍存在的转录因子,牵涉到不同的生物进程,包括细胞增殖及生长进程,Sp1 的异常活化与多种肿瘤的发生发展密切相关^[11-16]。

2.1 胃癌中的作用 Zhou C 等报道^[17],Sp1 在胃癌中呈现过表达状态,可在转录水平调控人类 MTA2 基因启动子(-1 043~-843 bp)区域,而上调 MTA2 基因的表达。在胃癌 SGC-7901 细胞和 AGS 细胞中基因敲除 MTA2,可抑制细胞的侵袭和迁移。

Wang 等^[1]研究证实,AP-2 α 在胃癌的发生发展中起着重要作用。单变量分析显示,在胃癌组织中,AP-2 α 的表达减低与患者的生存率密切相关。多因素分析表明,在胃癌患者中,AP-2 α 的表达情况与一些传统的肿瘤预测因素,比如肿瘤位置,肿瘤大小,肿瘤深度,淋巴结转移位置及转移情况等,均可作为独立的风险评估因素。结果表明,AP-2 α 表达减低,对胃癌患者来说是个不利因素,可能提示胃癌患者预后不良,同时,AP-2 α 可作为胃癌患者的一个新的预后因素。

2.2 大肠癌中的作用 AP-2 α 表达缺失与大肠癌的进展密切相关,例如,在大肠癌中,AP-2 α 的表达缺失,会解除管制 c-Kit、MCAM/MUC18、PAR-1、MMP-2 等基因的表达,抵制凋亡、黏附上皮细胞,增加血管发生和侵袭,进而促进转移表型。将全长 AP-2 α 转入 AP-2 α 缺失的大肠癌 sw480 细胞中,导致 E-cadherin 表达上调,MMP-9 表达下调,同时,细胞生长受到抑制、细胞的侵袭潜能明显下降。AP-2 α 在大肠癌中扮演着肿瘤抑制基因的角色^[18]。在大肠癌 SW480 细胞中,Sp1 是一个关键的转录因子可调节 OPN 基因的表达,进而影响细胞的黏附、迁移和侵袭^[19]。

* 基金项目:山西省自然科学基金资助项目(2013011043-4)。

作者简介:杜叶平,女,主管技师,主要从事肿瘤分子生物学的研究。

Δ 通讯作者,E-mail:dyphappiness@163.com。

2.3 乳腺癌中的作用 乳腺癌中,核因子 AP-2 的表达减低与疾病进展和增加侵袭能力密切相关,同时, AP-2 可作为一个独立因素,预测乳腺癌复发风险, AP-2 的表达减低,提高了乳腺癌的复发风险。在乳腺癌细胞中, Sp1 通过直接与 FOXF2 基因启动子区域结合而上调节其转录活性, FOXF2 表达缺失通过激活 EMT 程序增加细胞侵袭活性。通过废除 Sp1 启动子结合区域,影响 DNA 甲基化沉默 FOXF2 表达,影响 Sp1 结合 FOXF2 的功能,进而抑制其生物学进展^[20]。

3 转录因子 Sp1 与 AP-2 共同调节靶基因

Liu 等^[21]报道,转录因子 Sp1 和 AP-2 α 可通过结合人类 KCTD10 基因启动子的近侧区域,共同调节 KCTD10 基因的转录表达。KCTD10 基因启动子区域既不包含 TATA 盒也不包含 CCAAT 盒,但是在 CpG 岛附近发现有转录起始位点。缺失诱变提示在 -108 至 +30 区域是启动活性所必需的,定点突变分析显示 KCTD10 启动子近侧区域,发现了 Sp1 和 AP-2 α 两个重要的转录调节元件,体内染色质免疫共沉淀分析显示 Sp1 和 AP-2 α 可与 KCTD10 基因启动子的近侧区域结合。使作荧光素酶报告含量测定、实时定量 PCR、western blot 分析,过表达 Sp1 和 RNA 干扰 AP-2 α 显示结合于启动子近侧区域的 Sp1 可刺激 KCTD10 基因的启动子活性,促进野生型 KCTD10 基因的表达,相反,结合 AP-2 α 的区域出现了相反的功能。

Chen 等^[22]报道,在 K3 基因的 300 bp 处有两个重要的 DNA 作用元件,其中之一是 E,位于 K3 基因启动子区域的 -210~-181 bp,包含 Sp1 和 AP-2 两个潜在的结合基序。分化的角膜上皮细胞包含可结合 E 作用元件的 Sp1 和 AP-2 类核蛋白,Sp1 和 AP-2 缺失突变可降低 K3 基因 70% 的启动子活性。这些结果证实了在分化角膜上皮细胞中,Sp1 和 AP-2 在激活 K3 基因表达中扮演着重要的角色,但是在未分化角膜上皮细胞中尚不清楚。

Schewe 等^[23]报道,与肿瘤转移密切相关的 u-PAR 基因,其启动子区域 -152/-135 有 Sp1 和 AP-2 α 的特异性结合位点。在结肠癌患者中,有 AP-2 α 的肿瘤特异性结合位点的占 53.5%, Sp1 特异性结合位点的占 50.7%。Sp1 和 AP-2 α 对不同形式 u-PAR 基因的调控,起着重要作用。

Hongwei Qin 等^[24]报道, MMP-2 在人类星形神经胶质瘤中高度表达,可促进细胞的侵袭活性。MMP-2 启动子包含潜在的顺式作用元件:cAMP 反应结合蛋白、AP-1、AP-2、PEA3、C/EBP 和 Sp1。缺失突变和定点诱变分析表明, MMP-2 基因 -91/-84 区域有 Sp1 结合位点, -61/-53 区域有 AP-2 结合位点,共同调节 MMP-2 基因的侵袭活性。共转染实验表明,在 Sp 缺失的 SL2 细胞中, Sp1 和 Sp3 通过与 MMP-2 启动子区域结合,可提高 MMP-2 基因的活性。在 AP-2 缺失的 HepG2 细胞中,过表达 AP-2 同样可提高 MMP-2 启动子活性。这些结果表明 Sp1、Sp3 和 AP-2 可共同调节 MMP-2 基因的组成型表达。

综上所述,在众多研究中报道, Sp1 和 AP-2 α 的表达在不同肿瘤中,都呈现出一定的负相关, Sp1 和 AP-2 α 的表达上调或下降共同调控着不同靶基因的表达,二者相互影响,进而调节胃癌、大肠癌、乳腺癌等不同的肿瘤的发生、发展。

参考文献

[1] Wang W, Lv L, Pan K, et al. Reduced expression of transcription factor AP-2 α is associated with gastric adenocarcinoma prognosis

[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24897.

- [2] Dupuis-Maurin V, Brinza L, Bague J, et al. Overexpression of the transcription factor Sp1 activates the OAS-RNase L-RIG-I pathway[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0118551.
- [3] Liu R, Zhou A, Ren D, et al. Transcription factor specificity protein 1 (SP1) and activating protein 2 α (AP-2 α) regulate expression of human KCTD10 gene by binding to proximal region of promoter[J]. FEBS J, 2009, 276(4): 1114-1124.
- [4] Orso F, Fassetta M, Penna E, et al. The AP-2 α transcription factor regulates tumor cell migration and apoptosis[J]. Adv Exp Med Biol, 2007, 604(1): 87-95.
- [5] Zarelli VE, Dawid IB. Inhibition of neural crest formation by Kctd15 involves regulation of transcription factor AP-2[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(8): 2870-2875.
- [6] Imhof A, Schuierer, Werner O, et al. Transcriptional regulation of the AP-2 α promoter by BTEB-1 and AP-2rep, a novel wt-1/egr-related zinc finger repressor[J]. Mol Cell Biol, 1999, 19(1): 194-204.
- [7] Thewes V, Orso F, Jager R, et al. Interference with activator protein-2 transcription factors leads to induction of apoptosis and an increase in chemo- and radiation-sensitivity in breast cancer cells[J]. BMC Cancer, 2010, 10(1): 192.
- [8] Wu Y, Xiao Y, Ding X, et al. A miR-200b/200c/429-binding site polymorphism in the 3' untranslated region of the AP-2 α gene is associated with cisplatin resistance[J]. PLoS One, 2011, 6(12): e29043.
- [9] Carrière C, Mirocha S, Deharvengt S, et al. Aberrant expressions of AP-2 α splice variants in pancreatic cancer[J]. Pancreas, 2011, 40(5): 695-700.
- [10] Nolens G, Pignon JC, Koopmansch B, et al. Ku proteins interact with activator protein-2 transcription factors and contribute to ERBB2 overexpression in breast cancer cell lines[J]. Breast Cancer Res, 2009, 11(6): R83.
- [11] Huang C, Xie K. Crosstalk of Sp1 and Stat3 signaling in pancreatic cancer pathogenesis[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2012, 23(1/2): 25-35.
- [12] Chuang JY, Wang SA, Yang WB, et al. Sp1 phosphorylation by cyclin-dependent kinase 1/cyclin B1 represses its DNA-binding activity during mitosis in cancer cells[J]. Oncogene, 2012, 31(47): 4946-4959.
- [13] Banerjee S, Sangwan V, McGinn O, et al. Triptolide-induced cell death in pancreatic cancer is mediated by O-GlcNAc modification of transcription factor Sp1[J]. J Biol Chem, 2013, 288(47): 33927-33938.
- [14] Yang WB, Chen PH, Hsu T, et al. Sp1-mediated microRNA-182 expression regulates lung cancer progression[J]. Oncotarget, 2014, 5(3): 740-753.
- [15] Zhang JP, Zhang H, Wang HB, et al. Down-regulation of Sp1 suppresses cell proliferation, clonogenicity and the expressions of stem cell markers in nasopharyngeal carcinoma[J]. J Transl Med, 2014, 12(1): 222.
- [16] Chang WC, Hung JJ. Functional role of post-translational modifications of Sp1 in tumorigenesis[J]. J Biomed Sci, 2012, 19(1): 94.
- [17] Zhou C, Ji J, Cai Q, et al. MTA2 promotes gastric cancer cells invasion and is transcriptionally regulated by Sp1[J]. Mol Cancer, 2013, 12(1): 102.
- [18] Schwartz B, Melnikova VO, Tellez C, et al. Loss of AP-2 α results in deregulation of E-cadherin and MMP-9 and an increase in

tumorigenicity of colon cancer cells in vivo[J]. *Oncogene*, 2007, 26(28):4049-4058.

- [19] Takami Y, Russell MB, Gao C, et al. Sp1 regulates osteopontin expression in SW480 human colon adenocarcinoma cells[J]. *Surgery*, 2007, 142(2):163-169.
- [20] Tian HP, Lun SM, Huang HJ, et al. DNA methylation affects the SP1-regulated transcription of fOZF2 in breast cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(31):19173-19183.
- [21] Liu R, Zhou A, Ren D, et al. Transcription factor specificity protein 1(SP1) and activating protein 2a(AP-2a) regulate expression of human KCTD10 gene by binding to proximal region of promoter [J]. *Febs J*, 2009, 276(4):1114-1124.
- [22] Chen TT, Wu RL, Castro-Munozledo F, et al. Regulation of K3 keratin gene transcription by Sp1 and AP-2 in differentiating rab-

bit corneal epithelial cells[J]. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(6):3056-3064.

- [23] Schewe DM, Biller T, Maurer G, et al. Combination analysis of activator protein-1 family members, Sp1 and an activator protein-2alpha-related factor binding to different regions of the urokinase receptor gene in resected colorectal cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(24):1078-1082.
- [24] Qin H, Sun Y, Benveniste EN. The transcription factors Sp1, Sp3, and AP-2 are required for constitutive matrix metalloproteinase-2 gene expression in astrogloma cells[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(41):29130-29137.

(收稿日期:2015-12-25)

• 综 述 •

血小板输注的免疫学研究进展*

赵晓明, 杨 冀, 胡 靓 综述, 吴文娟[△] 审校

(同济大学附属东方医院南院检验科, 上海 200120)

关键词: 血小板; 免疫; 输血反应; 出血

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)08-1096-04

近年来随着输血医学的迅速发展,成分输血的比率大幅度地提高,血小板的输注也越来越被广泛应用。输注血小板制品是临床上治疗因血小板数量减少或功能异常导致出血的重要举措之一,其主要目的是提升血小板数及止血。急性白血病、再生障碍性贫血等血液病患者由于血小板减少可引起致命的并发症,常需要多次输注血小板,另外,恶性肿瘤接受联合化疗的患者、骨髓移植的患者等都需要输注血小板。而目前血小板的输注尚无具体的适用标准,在临床应用中 70% 是用于预防性输注或慢性疾病,而不是用于急性出血的治疗。然而预防性的输注血小板后,高达 75% 的患者仍有出血现象的发生。血小板的主要功能是参与生理止血,促进血块收缩和维持血管内皮的完整性,在血液凝固中起重要作用。最近几年,关于血小板免疫学的研究逐渐增多,它在炎症反应、血栓形成中发挥重要的作用,并且与肿瘤的生长及转移也有密切关系。血小板输注可引起发热、过敏、急性肺损伤等输血不良反应。血小板输注的有效性也一直是备受关注的研究课题,因为在临床上导致血小板输注无效的情况经常发生,达不到治疗的效果而成为困扰临床的一大难题。本文主要就血小板的免疫调节功能和血小板输注后机体免疫系统的变化进行了综述。

1 血小板的免疫学研究进展

1.1 血小板的起源 血小板是起源于巨核细胞的一种无核的细胞成分,其在血栓形成与止血中的作用已非常清楚,最近的研究发现它们在炎症中发挥重要的作用。从进化的角度来看,血小板可能起源于一个具有强大的止血功能和防御特性的多样性的细胞类型^[1]。因此他们的止血作用是和监督和抗炎特性密切交织在一起的。血小板表面受体的激活引起由内而外的信号传导和整合素的活化,而这一活动对血栓的形成是至关

重要的。

1.2 血小板表达的免疫介质 血小板除了表达 G-蛋白偶联受体外[主要是蛋白酶激活受体(PARs)],也有基于酪氨酸活化基序的免疫受体(ITAM),例如 Fc 受体、糖蛋白 VI(GPVI)和 C 型凝集素样受体 2(CLEC2)。Fc 受体促使免疫球蛋白和免疫复合物的结合,而 GPVI 和 CLEC2 在炎症反应中对保持血管的完整性起重要作用^[2]。Toll 样受体(TLR)也存在于血小板上,而它们的功能还不是特别的明确。最近的一个报道表明血小板表达的 TLR4 可能在调节 LPS 诱导的细胞因子产生中发挥作用,并且具有一定的调节炎症因子、黏附因子的作用^[3]。

此外,血小板表达柯萨奇病毒和腺病毒受体,柯萨奇病毒 1 和 3 可以诱导血小板上 P-选择素和磷脂酰丝氨酸的暴露。血小板的存在导致柯萨奇病毒 1 和 3 滴度的降低,致使感染这种病毒的小鼠有较低的心肌病毒负荷量。近期的一个报道阐述了患者在脑心肌炎病毒(EMCV)感染期间,血小板是怎样通过 TLR7 来保护宿主的。血小板减少导致生存率的下降,给 TLR7 缺失的小鼠输注血小板后其存活率显著提高^[4]。最近发现了另一种与血小板相关联的病毒是 H1N1 流感病毒。在 H1N1 流感病毒感染期间,血小板表面受体激活,产生脂质介质并且释放血小板微粒子(SPS),患者血液循环中的病毒和 IgG 免疫复合物通过 FcγR II a 来激活血小板,而 H1N1 病毒能够通过凝血酶的产生来激活血小板^[5]。

血小板还表达高迁移率族蛋白 1(HMGB1),血小板激活后, HMGB1 从细胞质转运到外层的细胞膜,其在胞外影响血小板的抗炎,增殖和迁移过程^[6]。TLR2、TLR4 和 TLR9 作为高级糖基化末端产物的受体(RAGE)参与 HMGB1 的炎症反

* 基金项目:浦东新区卫生系统重点专科建设(PWZz2013-03)。
作者, E-mail: wj3289@easthospital.cn。

作者简介:赵晓明,女,检验师,主要从事输血医学的研究。 △ 通讯作