

· 专家述评 ·

DOI:10.12095/j.issn.2095-6894.2018.05.003

肿瘤干细胞标志物 SOX2 在卵巢癌中的研究进展

马小茜¹, 蔡瑜文¹, 刘思莹¹, 钟少正¹, 贾乾², 刘伟³

(¹河北医科大学基础医学院, ²河北省人民医院体检中心化验室, 河北石家庄 050051; ³河北医科大学基础医学院免疫学教研室, 河北省重大疾病免疫机制及干预重点实验室, 河北石家庄 050017)

Research progress of tumor stem cell marker SOX2 in ovarian cancer

MA Xiao-Xi¹, CAI Yu-Wen¹, LIU Si-Ying¹, ZHONG Shao-Zheng¹, JIA Qian², LIU Wei³

¹Basic Medical Collage, Hebei Medical University, ²Laboratory of Physical Examination Center, Hebei People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China; ³Department of Immunology, Basic Medical Collage of Hebei Medical University, Key Laboratory of Immune Mechanism and Intervention on Serious Disease, Shijiazhuang 050017, China

【Abstract】 Sex-determining region Y-box 2 is a gene that encodes for a transcription factor belonging to the SOX gene family. It maintains totipotency of stem cells, participates in self-renewal of tumor stem cells, and plays a key role in the occurrence and development of multiple tumors. In recent years, many studies have found that SOX2 is highly expressed in ovarian cancer, which has a potential relationship with the development of ovarian cancer stem cell characteristics. Moreover, studies have shown that the BB5 region acts as a repressor of SOX2 and regulates SOX2 expression in tissues. The expression of SOX2 is closely related with chemoresistance and poor prognosis in patients with ovarian cancer; therefore, it can predict chemoresistance and prognosis, and can be used as a tumor marker in early detection with good detectability.

【Keywords】 SOX2; ovarian cancer; tumor markers; cancer stem cells

【摘要】 性别决定区 Y 框蛋白 2(SOX2)是 SOX 基因家族的转录因子,维持干细胞的全能性,参与肿瘤干细胞的自我更新,在多种肿瘤的发生发展中发挥重要作用。近年来,大量研究发现 SOX2 在卵巢癌中高表达,且与卵巢癌干细胞特性的获得有着潜在的关系。研究显示, BB5 区域可作为 SOX2 的阻遏物调节 SOX2 在组织中的表达。SOX2 的表达与卵巢癌患者的化疗耐药性和不良预后密切相关,其可预测化疗耐药性并辅助预后,同时可作为早期检测的肿瘤标志物,并且具有较强的检测能力。

【关键词】 SOX2; 卵巢癌; 肿瘤标志物; 肿瘤干细胞

【中图分类号】 R783.1 **【文献标识码】** A

0 引言

卵巢癌是女性生殖系统中常见的一种恶性肿瘤,并且是致死性最高的妇科肿瘤之一。因缺乏早期症状,卵巢癌被诊断时通常已处于晚期转移阶段,并且容易发生腹腔转移及复发,从而造成了卵巢癌的高致死率^[1]。卵巢癌的一线治疗方法为细胞减少性手术结合铂类联合紫杉醇化疗。尽管近年来已观察到中值存活期的改善,但大多数患者最终还是由于化疗耐药性而复发^[2]。目前的早期检测方法是患者对症状的感知及血清标志物 CA125 结合超声波成像,但 Jacobs 等^[3]最新研究表明,目前的早期检测方法不能

明显降低死亡率。因此,迫切需要一种具有更高特异性和敏感性的新型肿瘤标志物来辅助卵巢癌的早期诊断及预后。

肿瘤干细胞是指肿瘤中存在的含量极少、具有无限增殖潜能的干细胞样肿瘤细胞,其能自我更新、分化、迁徙,是肿瘤发生、复发、转移和治疗失败的根源^[4]。卵巢癌也可能是肿瘤干细胞所致的疾病,因此,寻找卵巢癌分子标志物是研究卵巢癌干细胞的关键^[5]。Weina 等^[6]的研究数据表明,性别决定区 Y 框蛋白 2(sex determining region Y-box 2, SOX2)在乳腺癌,胃癌,肺癌和卵巢癌等多种癌症的肿瘤干细胞

收稿日期:2017-12-15;接受日期:2018-01-30

基金项目:河北省科技计划项目(152777201);河北省博士后科研项目择优资助项目(B2015003029);河北省高等教育学会项目(GJXH2013-135)

作者简介:马小茜。研究方向:肿瘤免疫学。E-mail: maxx98tay@126.com

通讯作者:刘伟。博士,副教授。E-mail: liuweihbmu@hebm.edu.cn

中表达升高,Pham 等^[7]甚至认为 SOX2 就是促进肿瘤形成和增殖的原癌基因。因此,SOX2 可能成为这些癌症的预后标记、转移指标、生物标志物或潜在的治疗靶点,对 SOX2 的检测可能有助于卵巢癌的早期诊断及监测等。本文就 SOX2 作为卵巢癌标志物及其在卵巢癌干细胞特性的获得与维持中作用最新研究进展作此综述。

1 SOX2 的生物学特性

SOX2 是 SOX 基因家族的成员,位于人类染色体 3q26.3-q27 上,其所在染色体 3q26 区域拷贝数的增加是人类肿瘤中最常见的重复拷贝数变异,在 20% 以上的人类肿瘤中发生。染色体 3q26 拷贝数增加的频繁发生提示其能通过这种遗传变异驱动肿瘤的发生^[8]。SOX2 是维持胚胎干细胞自我更新能力和分化潜能以及将体细胞重编程为多能干细胞的重要转录因子,同时也在肿瘤干细胞自我更新能力的维持和肿瘤细胞生存调控方面起关键作用^[9]。

2 SOX2 在组织中的表达机制

许多研究数据^[6-7,9]已表明,SOX2 在卵巢癌中高表达。Hellner 等^[10]在鉴定卵巢癌细胞的早期突变时,发现 SOX2 远端阻遏物的一个 40 kb 区域发生频繁突变。通过全基因组序列检测及对突变基因最近的转录起始位点进行通路富集分析,检测到附近发生了 6 个突变的 SOX2 基因座。对高级浆液性卵巢癌患者 SOX2 基因座侧翼的 2 Mb 区域以及 BB1-BB6 进行靶向深度测序,显示 BB5 核苷酸侧翼的一个 40 kb 区域显著富含单核苷酸多态性。CRISPR-Cas9 介导的基因组缺失导致 SOX2 表达的显著增加。这证实了 BB5 区域(chr3:182,189,714-182,229,714)在人类细胞模型中作为 SOX2 表达的阻遏物,以调控 SOX2 在组织中的表达^[10]。目前,关于 SOX2 在卵巢癌中表达机制的研究还相对缺乏,对 SOX2 表达机制的理解将有助于 SOX2 在临床研究中的应用,因此,更多围绕 SOX2 表达机制的研究亟待被开展。

3 SOX2 与卵巢癌肿瘤干细胞特性的获得与维持

SOX2 在调节卵巢癌的肿瘤干细胞特性方面起着重要的作用^[11-14]。肿瘤干细胞在无血清培养基中具有锚定非依赖性生长和球形成的能力。从 SKOV3,PA-1 和 A2780 三种卵巢癌细胞系的培养细

胞中分离出具有球形成能力的细胞,通过 RT-PCR 和免疫细胞化学法检测 SOX2 的表达,结果显示成球细胞中 SOX2 的表达高于这些相应细胞系培养的贴壁细胞。通过 shRNA 抑制卵巢癌细胞系 A2780 和 SK-OV3 的 SOX2 表达,发现细胞的球形成能力降低,随之而来的是细胞迁移能力的降低^[11]。这些结果都表明 SOX2 的表达增强了卵巢癌细胞的球形成能力,也意味着其与卵巢癌的干细胞特性有着潜在的关联。进一步通过细胞连续传代试验揭示了 SOX2 表达阳性的细胞在连续传代培养中保持球形成能力,而 SOX2 表达阴性的细胞则失去这种能力^[12]。也就是说,SOX2 刺激干细胞状态的转化只发生在部分癌细胞中,即 SOX2 高表达的细胞中。SOX2 通过促进浆液性卵巢癌细胞向增强肿瘤启动特性的肿瘤干细胞状态转变来调节肿瘤的发生。Wen 等^[13]应用 qPCR 方法分析在 shSOX2 或对照组转染的成球细胞中干细胞或肿瘤干细胞相关基因的表达,发现 SOX2 的敲低导致包括 BMI-1、b-连环蛋白、KLF4、OCT4、NANOG 和 ALDH1A1 在内的一些相关基因的表达下调。SOX2 表达与卵巢癌细胞中干细胞特性相关基因的表达呈正相关,进一步论证了 SOX2 对卵巢癌干细胞特性的影响,Wen 等还提出 SOX2 对于卵巢癌干细胞特性的维持起到重要作用。

Wang 等^[14]分析了 6 个卵巢癌细胞系中的 SOX2 表达情况,发现 SOX2 蛋白水平在不同细胞系中有很大差异:在高转移的细胞系中 SOX2 表达水平较高,而在低转移的卵巢浆液性癌细胞系中相对较低。细胞迁移侵袭试验和细胞黏附试验显示当 SOX2 蛋白被破坏,细胞增殖也随之减弱;抑制 SOX2 蛋白表达可减弱癌细胞的迁移和侵袭能力,增强其对培养基的黏附能力。当抑制 Src 激酶时,癌细胞的转移和侵袭也被抑制,细胞黏附作用提高,因此推测 Src 激酶可能对于 SOX2 调节浆液性卵巢癌细胞的黏附和迁移至关重要。与此研究不同的是,Bareiss 等^[12]的研究中通过分析 SOX2 蛋白表达和 Ki67 染色,认为 SOX2 表达并未影响细胞增殖,但增强了浆液性卵巢癌细胞对凋亡的抵抗。Li 等^[15]的研究结果则显示 SOX2 的沉默既能降低细胞增殖也能增强以紫杉醇诱导的凋亡。SOX2 作用于卵巢癌的机制尚未完全清晰,但这些发现提示着一些潜在通路的存在,并且和卵巢癌的干细胞特性具有极大相关性,需要深入探究,通过更有力实验来验证。

4 SOX2 作为卵巢癌肿瘤标志物的临床应用潜力

4.1 SOX2 与卵巢癌的早期检测 通过免疫荧光染色对 SOX2 进行评估,发现在正常输卵管上皮细胞、卵巢癌肿瘤细胞和良性的输卵管上皮细胞中,高级浆液性卵巢癌细胞中 SOX2 有较强的阳性染色^[16]。然而,在少数恶性的卵巢癌组织中 SOX2 表达显著降低^[10]。此外,进行 p53 染色的 28 例高级浆液性卵巢癌患者的输卵管上皮中仅有 8 例也显示出 p53 特征,提示 SOX2 过表达可能在 p53 失调之前发生^[10],因此 SOX2 将更有助于卵巢癌的早期检测。通过在整个数据集上拟合二项式一般线性模型,发现 SOX2 的表达能精确地预测输卵管来自高级浆液性卵巢癌患者还是良性患者^[10],提示着 SOX2 作为卵巢癌标志物具有独特的潜力^[17],可辅助现有卵巢癌标志物提高早期检测的精准度。

4.2 SOX2 与卵巢癌化疗耐药性 Seo 等^[11]研究发现,成球细胞比贴壁细胞具有更强的抗药性。用 RT-PCR 和蛋白质印迹法评估药物转运蛋白的表达,显示成球细胞较贴壁细胞具有更高的 ABC 转运器表达。抑制 SOX2 表达会降低 ABC 转运器的表达,同时降低对阿霉素和紫杉醇的抗药性。SOX2 通过激活卵巢癌细胞中 ABC 转运器的表达提高化疗耐药性。蛋白质印迹法分析结果及 Notch1 信号通路的 DNA 结合配偶体 HIF-1 α 和 CSL 的敲除建模试验显示,SOX2 可作为缺氧诱导的 Notch1 信号通路下游的关键效应物以维持卵巢癌干细胞的化疗耐药性。通过 RT-PCR 分析不同的卵巢癌细胞系,发现 SOX2 表达在紫杉醇抗性细胞系 (SKOV3/TAX 细胞系) 中较 SKOV3 细胞系显著升高,且 SOX2 在紫杉醇敏感性细胞系中弱检测^[15,18]。随着紫杉醇处理时间的增加,SKOV3 细胞系中 SOX2 表达下降,而 SKOV3/TAX 细胞系中 SOX2 表达保持相对恒定的高水平^[15],这表明 SOX2 过表达与紫杉醇抗性有重要联系。通过蛋白质印迹法分析发现 SOX2 可通过调节 PI3K/Akt 信号通路增强卵巢癌耐药性。Wen 等^[13]通过 MTT 比色法及 qPCR 发现 SOX2 能促进卵巢癌的顺铂耐药性。Wei 等^[19]则通过生物信息学方法发现 SOX2 与卵巢癌抗药性显著相关。因此,检测 SOX2 表达或许可辅助预测化疗耐药性,从而对进一步治疗作出预见性的决策。

4.3 SOX2 与卵巢癌的预后 利用癌症基因组学门户,对 SOX2 进行 Kaplan-Meier 分析,发现 SOX2 的扩

增显示中值总生存期的差异具有统计学意义^[18]。因此,SOX2 或许可作为卵巢癌患者生存结果的预测因子。SOX2 阳性的卵巢癌患者与阴性患者相比生存期较短^[20],这表明 SOX2 可能成为卵巢癌预后的标志物。但 Du 等^[18]的实验结果显示,SOX2 对生存结果的预测与癌症阶段有关,因此不能作为总生存的预测因子。通过免疫组织化学染色分析卵巢癌组织样本中的 SOX2 表达发现在原发性卵巢癌和相应的转移性病变中 SOX2 高表达的病例占多数,且卵巢癌转移性癌中 SOX2 高表达的病例更多;SOX2 表达与组织学分级显著相关,在低分化的肿瘤中相对高表达;SOX2 蛋白随浆液性卵巢癌的进展增加;SOX2 高表达缩短了总生存区间^[14]。Wen 等^[13]则通过免疫组织化学的方法发现 SOX2 的高表达与诊断年龄、FIGO 分期、化疗耐药性、复发以及生存期都显著相关,SOX2 高表达患者的生存期明显缩短。划痕实验表明,SOX2 过表达细胞的迁移能力明显提高,说明 SOX2 过表达与卵巢上皮性癌转移相关。通过质粒转染建立 SOX2 基因稳定转染的卵巢上皮癌细胞株,检测 SOX2 及 YAP1 的表达,结果证实 SOX2 过表达细胞中 YAP1 表达也明显增加,说明在卵巢上皮性癌中 SOX2 可正向调控 YAP1 的表达,但具体调控机制有待进一步研究^[21]。FN1 可激活 MMP2、MMP9 等基质金属蛋白酶的活性,促进肿瘤的侵袭转移。Lou 等^[22]通过双荧光素酶报告法检测发现 SOX2 能诱导 FN1 启动子活性,直接以 FN1 为靶点诱导 MMP2 及 MMP9 蛋白水解能力的增加,并且 FN1 基因敲除可以逆转 SOX2 促进侵袭转移的能力。SOX2-FN1-MMP 通路在促进卵巢癌细胞侵袭转移过程中可能发挥着重要的作用。综上所述,SOX2 的表达可辅助卵巢癌转移复发的预测及预后。

5 结语

近年来,随着对卵巢癌研究的逐渐深入,越来越多的卵巢癌标志物被发现并应用于临床实践。卵巢癌干细胞起源的学说也逐渐进入研究者的视野。大量研究表明,SOX2 在卵巢癌的发生发展中起到潜在的重要作用。在卵巢癌中,SOX2 通过促进浆液性卵巢癌细胞向增强肿瘤启动特性的肿瘤干细胞状态转变来调节肿瘤的发生,同时对卵巢癌肿瘤干细胞特性的维持有着重要的影响。SOX2 对卵巢癌发生发展及耐药性的潜在作用提示着 SOX2 应用于临床卵巢癌早期检测、耐药性预测及预后中的可能性。然而,

SOX2 的作用机制尚未完全清晰,仍需进一步的研究与讨论。

【参考文献】

- [1] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014[J]. *CA Cancer J Clin*,2014,64(1):9-29.
- [2] Vaughan S, Coward JI, Bast RC Jr, et al. Rethinking ovarian cancer: recommendations for improving outcomes[J]. *Nat Rev Cancer*,2011,11(10):719-725.
- [3] Jacobs IJ, Menon U, Ryan A, et al. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2016, 387(10022):945-956.
- [4] Foster R, Buckanovich RJ, Rueda BR. Ovarian cancer stem cells: working towards the root of stemness [J]. *Cancer Lett*, 2013, 338(1):147-157.
- [5] Burgos-Ojeda D, Rueda BR, Buckanovich RJ. Ovarian cancer stem cell markers: prognostic and therapeutic implications [J]. *Cancer Lett*,2012,322(1):1-7.
- [6] Weina K, Utikal J. SOX2 and cancer: current research and its implications in the clinic[J]. *Clin Transl Med*,2014,3:19.
- [7] Pham DL, Scheble V, Bareiss P, et al. SOX2 expression and prognostic significance in ovarian carcinoma[J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2013,32(4):358-367.
- [8] Fields AP, Justilien V, Murray NR. The chromosome 3q26 OncCassette: A multigenic driver of human cancer [J]. *Adv Biol Regul*, 2016,60:47-63.
- [9] Chen S, Li X, Lu D, et al. SOX2 regulates apoptosis through MAP4K4-survivin signaling pathway in human lung cancer cells[J]. *Carcinogenesis*,2014,35(3):613-623.
- [10] Hellner K, Miranda F, Fotso Chedom D, et al. Premalignant SOX2 overexpression in the fallopian tubes of ovarian cancer patients: Discovery and validation studies [J]. *EBioMedicine*, 2016, 10: 137-149.
- [11] Seo EJ, Kim DK, Jang IH, et al. Hypoxia-NOTCH1-SOX2 signaling is important for maintaining cancer stem cells in ovarian cancer[J]. *Oncotarget*,2016,7(34):55624-55638.
- [12] Bareiss PM, Paczulla A, Wang H, et al. SOX2 expression associates with stem cell state in human ovarian carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2013,73(17):5544-5555.
- [13] Wen Y, Hou Y, Huang Z, et al. SOX2 is required to maintain cancer stem cells in ovarian cancer[J]. *Cancer Sci*,2017,108(4):719-731.
- [14] Wang X, Ji X, Chen J, et al. SOX2 enhances the migration and invasion of ovarian cancer cells via Src kinase[J]. *PLoS One*,2014,9(6):e99594.
- [15] Li Y, Chen K, Li L, et al. Overexpression of SOX2 is involved in paclitaxel resistance of ovarian cancer via the PI3K/Akt pathway[J]. *Tumour Biol*,2015,36(12):9823-9828.
- [16] Belotte J, Fletcher NM, Alexis M, et al. Sox2 gene amplification significantly impacts overall survival in serous epithelial ovarian cancer[J]. *Reprod Sci*,2015,22(1):38-46.
- [17] Virant-Klun I, Kenda-Suster N, Smrkolj S. Small putative NANOG, SOX2, and SSEA-4-positive stem cells resembling very small embryonic-like stem cells in sections of ovarian tissue in patients with ovarian cancer[J]. *J Ovarian Res*,2016,9:12.
- [18] Du JT, Li B, Fang YL, et al. Overexpression of Class III beta-tubulin, Sox2, and nuclear Survivin is predictive of taxane resistance in patients with stage III ovarian epithelial cancer[J]. *BMC Cancer*, 2015,15:536.
- [19] Wei L, Yin F, Zhang W, et al. STROBE-compliant integrin through focal adhesion involve in cancer stem cell and multidrug resistance of ovarian cancer[J]. *Medicine (Baltimore)*,2017,96(12):e6345.
- [20] Zhang J, Chang DY, Mercado-Urbe I, et al. Sex-determining region Y-box 2 expression predicts poor prognosis in human ovarian carcinoma[J]. *Hum Pathol*,2012,43(9):1405-1412.
- [21] 倪晓鸽,杨佩芳. 卵巢上皮性癌 YAP1 和 SOX2 的表达及其临床意义[J]. *江苏大学学报(医学版)*,2016,26(5):405-409.
- [22] Lou X, Han X, Jin C, et al. SOX2 targets fibronectin 1 to promote cell migration and invasion in ovarian cancer: new molecular leads for therapeutic intervention[J]. *OMICS*,2013,17(10):510-518.