

MCM 蛋白在宫颈上皮内病变中的研究进展

温俊秀 张可心 王琦 宋旭东*

(华北理工大学附属医院)

摘要: 微小染色体维持蛋白(MCM 蛋白) 在真核生物中的功能主要与 DNA 复制有关, 可调节 DNA 复制, 在 DNA 开始复制和延伸中发挥重要作用, 通过多种作用机制控制 DNA 复制只发生一次。当某些因素引起 MCM 蛋白发生异常时, 处于静止期的细胞重新进入细胞周期, DNA 异常复制, 最终导致肿瘤的发生, 所以 MCM 蛋白被认为是一种新的肿瘤标志物。MCM 与宫颈上皮内病变的发生、发展密切相关, 并与宫颈上皮内病变的靶向治疗有关, 从而为宫颈上皮内病变的治疗带来新的方向。

关键词: 微小染色体维持蛋白; 宫颈上皮内病变

1、MCM 蛋白

1.1 微小染色体维持蛋白(MCM)

微小染色体维持蛋白(minichromosome maintenance proteins, MCM 蛋白) 首先由 Bik-Kwoon Tye 在 20 世纪 80 年代于突变的酵母中发现, 随后 MCM 蛋白被发现在太古代生物到高等真核生物都广泛存在。MCM 蛋白是 DNA 复制的主要调节因子, 可维持基因组稳定性。近年来 DNA 复制失调一直为癌症研究的前沿, 其抑制药物的经典化疗药物的主要靶点之一^[1]。这提示我们 MCM 蛋白可能成为新的肿瘤标记物, 为肿瘤的治疗提供新的治疗方案。

MCM 蛋白是一组高度保守的蛋白, 是 AAA ATP 酶家族的一个亚群, MCM 家族包括 10 个成员 (MCM1 - MCM10)。MCM 蛋白家族成员之间全部相同区域达 30%, 类似区域达 50%。MCM 家族共有 1 个高度保守的中央结构域, 由大约 200 个氨基酸残基组成, 称为 MCM 盒子 (MCM BOX)。MCM 盒子包括 3 个模序, 分别为 Walker A 模序、Walker B 模序和一个位于 Walker B 之后的精氨酸锌指模序。精氨酸锌指模序由 70 个碱基组成, 在在蛋白质及 DNA 的相互作用和 MCM 复合物的聚集中发挥重要作用。Walker A 模序形成 MCM 特异性结构 GDPxx(S/A)KS, Walker B 模序被认为有助于 ATP 水解^{[3][4][5]}, 并且参与形成了 IDEFDKM 模序。IDEFDKM 模序在所有 MCM 蛋白中都是保守的, 并定义了 MCM 家族^[2]。

1.2 微小染色体维持蛋白功能

在细胞周期中, MCM2, MCM3, MCM4, MCM5, MCM6 和 MCM7 形成六聚体环状复合物, 作为 DNA 解旋酶, 解绕双链 DNA。MCM2、4、6 和 7 形成异四聚体复合物, M3 和 M5 形成另一种复合物, 两种复合物在 CDT 1 和 CDC 6 帮助下在 DNA 复制原点组装成异六聚体 MCM2-7 复合物。MCM2-7 六聚体与 CDC45 和 GINS 复合物形成 CMG 复合物, CMG 复合物表现出明显的 DNA 解旋酶活性^[6]。因此, MCM2-7 复合物是所有真核生物中启动 DNA 合成的复制起始复合

物的关键组成部分。要激活 CMG 解旋酶活性, 需要 MCM10 在起始区域的组装。Mcm10 是复制起始因子之一^[7]。人类 MCM 10 主要结合 MCM4、6 和 7, 可能在 DNA 解绕过程中直接与单链 DNA 结合, 还可以与 MCM 6 的 ATP 结合域结合^[8]。MCM10 还可以通过与 MCM2-7 复合物结合形成完整复合体, 充当支架蛋白^[9]。

在 DNA 复制结束时必须抑制 CMG 解旋酶功能以防止过度复制。这时, MCM7 被多泛素化, 然后通过 CDC48 蛋白复合物的作用被驱逐, 导致 CMG 复合物从染色质上分离(Moreno et al, 2014)。MCM2~7 在细胞周期中呈现规律的变化, 在有丝分裂末期和 G1 期紧密连接, 而在 S 和 G2 期脱落^[10]。由于这种与细胞增殖过程相一致的周期性变化目前已将它视为 S 期细胞的标志物通过检测 MCM2 即可直接反应 MCM 蛋白的水平。Mcm1 是一种全局转录因子, 可调节一些 MCM 基因和其他 DNA 复制基因的表达。Mcm1 在调控复制起始中的直接作用仍有待研究。MCM8 在细胞核中发现, 在 S 期明显与染色质相关, 具有 MCM 蛋白所有经典的结构, 在多种组织中广泛表达。Mcm8 可能参与负性调节 MCM 六聚体或者 Mcm8 可以形成具有不同功能的同六聚体。MCM8-9 也形成一种复合物, 主要存在于脊椎动物中^[11]。MCM8-9 可能在同源重组 (HR) 修复中发挥作用^[12]。

2、MCM 蛋白与宫颈癌

全世界每年约有 50 多万女性被诊断出患有宫颈癌, 约 30 多万人因宫颈癌死亡^[13]。中、低收入国家宫颈癌新发病例和死亡病例分别占 88% 和 91%^[14]。在中国, 宫颈癌是第二大女性恶性肿瘤, 根据国家癌症中心 2015 年的数据, 宫颈癌新增病例 9.89 万例, 死亡 30500 例^{[15][16]}。宫颈癌是从宫颈上皮内病变逐渐发展到癌。细胞周期失控与肿瘤密切相关, 而细胞周期失控则与 DNA 复制的起始调控相关。许多研究显示 MCM 蛋白只在处于增殖周期的细胞中表达, 在分化成熟或不处于增殖周期的细胞中不能检测出来。因此 MCM 蛋白可作为增殖细胞的特殊标志物。

蒋莉萍^[7]等采用免疫组织化学法对 240 例宫颈上皮内病变标本（包括 CIN I 级患者 130 例，CIN II-III 级 110 例患者、50 例慢性宫颈炎患者及 20 例宫颈浸润性鳞癌患者）行 MCM2 检测，结果显示 CIN I 级、CIN II-III 级、浸润性鳞癌患者病理组织中 MCM2 阳性表达率均显著高于慢性宫颈炎患者，且 CIN II-III 级、浸润性鳞癌患者显著高于 CIN I 级患者，提示 MCM2 能准确地反映鳞状上皮细胞的增殖程度。

陈泉材^[8]等通过采用免疫组织化学法对 115 例宫颈上皮内病变患者的标本分析显示 MCM4 在宫颈组织中随着病变程度加重着色深度逐渐加强，阳性表达细胞比例逐渐升高，范围逐渐增大，癌组织中呈弥漫表达。该研究还提示 MCM4 蛋白在不同级别宫颈病变组织的阳性表达率均高于 Ki-67 蛋白。由此推测提示 MCM4 蛋白在细胞周期调控过程中的影响更显著，提示提示 MCM4 作为宫颈癌早期诊断指标可能优于 Ki-67。

综上所述，MCM 蛋白在宫颈上皮内病变的研究中显示出重要的潜在价值。未来的研究可能包括开发新的实验模型以研究 MCM 蛋白在宫颈上皮内病变中的功能，以及评估 MCM 蛋白作为诊断和预后标志物的可行性。同时，针对 MCM 蛋白的治疗策略也值得进一步探索，以期为宫颈上皮内病变患者提供更有效的治疗方法。

参考文献：

[1]Neves H, Kwok H F. In sickness and in health: The many roles of the minichromosome maintenance proteins[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*, 2017;295.DOI:10.1016/j.bbcan.2017.06.001.

[2]Domenico, Maiorano, and, et al. MCM proteins and DNA replication[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2006.DOI:10.1016/j.ceb.2006.02.006.

[3]王东星,周军年,岳文等.微小染色体维持蛋白与肿瘤[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2018,45(08):789–797.

[4]张梦婷,高盼,杨永秀.微小染色体维持蛋白在卵巢癌中的研究进展[J]. *医学综述*, 2014,20(23):4277–4279.

[5]Forsburg S L. Eukaryotic MCM proteins: beyond replication initiation[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2004, 68(1): 109–131.

[6]Bochman M L, Schwacha A. The Mcm2–7 complex has in vitro helicase activity[J]. *Molecular cell*, 2008, 31(2): 287–293.

[7]Douglas M E, Diffley J F X. Recruitment of Mcm10 to sites of replication initiation requires direct binding to the minichromosome

maintenance (MCM) complex[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(11): 5879–5888.

[8]Hosoi A, Sakairi T, Ishimi Y. Binding of MCM-interacting proteins to ATP-binding site in MCM6[J]. *Research and Reports in Biology*, 2016: 31–40.

[9]Brosh R. M., Trakselis M. A. (2019). Fine-tuning of the Replisome: Mcm10 Regulates Fork Progression and Regression. *Cell Cycle* 18(10), 1047–1055

[10]Kearsey S E, Labib K. MCM proteins: evolution, properties, and role in DNA replication[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Gene Structure and Expression*, 1998, 1398(2): 113–136.

[11]Liu Y., Richards T. A., Aves S. J. (2009). Ancient Diversification of Eukaryotic MCM DNA Replication Proteins. *Bmc Evol. Biol.* 9, 60. 10.1186/1471–2148–9–60

[12]Nishimura K., Ishiai M., Horikawa K., Fukagawa T., Takata M., Takisawa H., et al. (2012). Mcm8 and Mcm9 Form a Complex that Functions in Homologous Recombination Repair Induced by DNA Interstrand Crosslinks. *Mol. Cell* 47(4), 511–522. 10.1016/j.molcel.2012.05.047

[13]Cao W, Chen H D, Yu Y W, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020[J]. *Chinese medical journal*, 2021, 134(07): 783–791.

[14]Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2021,71(3): 209–249.

[15]Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2018, 68(6): 394–424.

[16]Prabhu M, Eckert L O. Development of World Health Organization (WHO) recommendations for appropriate clinical trial endpoints for next-generation Human Papillomavirus (HPV) vaccines[J]. *Papillomavirus Research*, 2016, 2: 185–189.

[17]蒋莉萍,吴凤珍,肖艳等.p16、微型染色体维持蛋白 2、Ki-67 在宫颈鳞状上皮内病变的表达与意义[J]. *现代医学与健康研究电子杂志*, 2021,5(17):35–38.

[18]陈泉材,韩赛,刘露等.CDC7、MCM4 在 105 例宫颈病变组织中的表达及意义[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2022,60(01):34–39.