

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.01.005

· 基础研究 ·

BRCC3/NLRP3 促进子宫内膜异位症炎症癌转化中的机制

刘彧¹, 吴琼蔚¹, 张文璿¹, 王春春¹, 黄玉华¹, 李冰¹, 马成斌¹, 杨钰²(上海市长宁区妇幼保健院 妇科, 上海 200050; 2. 同济大学附属上海市第四人民医院 放射科, 上海 200434)

[摘要] **目的:**探讨 NOD 样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体的活化在子宫内膜异位症 (EMT) 进展为 EMT 相关性卵巢癌 (EAOC) 过程中的作用及其机制。 **方法:**选取 2018 年 4 月至 2019 年 6 月上海市长宁区妇幼保健院收治的 EAOC、EMT、正常子宫内膜 (CON 组) 组织标本各 15 例及患者的临床资料, 利用免疫组织化学染色法、WB 法检测 EAOC、EMT 和 CON 组织中 NLRP3、caspase-1 和 IL-1 β 及含 BRCA1/BRCA2 的复杂亚基 3 (BRCC3) 的表达水平。构建过表达 BRCC3 质粒和 si-NLRP3 质粒并转染 EMT 细胞 CRL-7566, 通过 WB 法检测转染后细胞中 BRCC3 蛋白的表达水平, 利用 MTT 法、流式细胞术及 Transwell 实验分别检测转染后细胞增殖、凋亡、迁移与侵袭能力的变化。对过表达 BRCC3 组细胞进行干扰 NLRP3 实验, 通过 WB 法检测干扰后 BRCC3 和 NLRP3 蛋白的表达水平, 检测干扰后细胞增殖、凋亡、迁移与侵袭能力的变化。 **结果:**EAOC 和 EMT 组织中 NLRP3、caspase-1、IL-1 β 和 BRCC3 的表达水平较 CON 组均呈明显升高 (均 $P < 0.01$), 且 EAOC 组织中 NLRP3 与 BRCC3 的表达呈正相关 ($r = 0.65, P < 0.01$)。在 CRL-7566 细胞中过表达 BRCC3 显著促进细胞的增殖、迁移和侵袭并抑制细胞凋亡 (均 $P < 0.01$), 敲减 NLRP3 则抑制 CRL-7566 细胞的上述表型 (均 $P < 0.01$), 过表达 BRCC3 增强 NLRP3 的表达水平 ($P < 0.01$), 而干扰 BRCC3 则抑制 NLRP3 表达 ($P < 0.01$); 干扰 NLRP3 可以部分逆转 BRCC3 对细胞凋亡的抑制作用 ($P < 0.01$)、对细胞迁移 ($P < 0.05$) 和侵袭 ($P < 0.01$) 的促进作用。 **结论:**EAOC 和 EMT 组织中 NLRP3 和 BRCC3 均呈高表达, 过表达 BRCC3 可促进 CRL-7566 细胞的增殖、迁移和侵袭并抑制细胞凋亡, 与 EMT 向 EAOC 转化有关, BRCC3/NLRP3 是潜在的 EAOC 炎症癌转化预测标志物及治疗靶点。

[关键词] 子宫内膜异位症; 子宫内膜异位症相关的卵巢癌; NOD 样受体蛋白 3; 含 BRCA1/BRCA2 的复杂亚基 3; CRL-7566 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭; 凋亡

[中图分类号] R737.33; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)01-0035-07

The mechanism of BRCC3/NLRP3 in promoting the transformation of endometriosis to endometriosis-associated ovarian carcinoma

LIU Yu¹, WU Qiongwei¹, ZHANG Wenying¹, WANG Chunchun¹, HUANG Yuhua¹, LI Bing¹, MA Chengbin¹, YANG Yu² (1. Department of Gynaecology, Shanghai Changning Maternal and Infant Health Hospital, Shanghai 200065, China; 2. Department of Radiology, Shanghai Fourth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200434, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammatory vesicle activation in the progression of endometriosis (EMT) to endometriosis-associated ovarian cancer (EAOC) and the mechanism. **Methods:** EOAC tissues ($n=15$), EMT tissues ($n=15$), and normal endometrium tissues (CON, $n=15$) resected from patients during April 2018 and June 2019, as well as the clinical data of patients, were collected from the Shanghai Changning Maternity and Infant Health Hospital. Expression of NLRP3, BRCA1/BRCA2 containing complex subunit 3 (BRCC3), caspase-1 and IL-1 β in the tissues of each group was detected by immunohistochemistry and WB methods. BRCC3 overexpression plasmids and si-BRCC3 plasmids were constructed and transfected into EMT CRL-7566 cells. The expression level of BRCC3 protein in the transfected cells was detected by WB method. The changes in cell proliferation, apoptosis, migration and invasion of transfected cells were detected by MTT method, flow cytometry and Transwell test, respectively. The BRCC3-overexpressing cells were further interfered with NLRP3. The expression levels of BRCC3 and NLRP3 proteins after the interference were detected by WB method, and the changes in cell proliferation, apoptosis, migration and invasion after interference were also detected. **Results:** The expression levels of NLRP3, caspase-1, IL-1 β and BRCC3 in EAOC and EMT tissues were higher than those in CON group (all $P < 0.01$), and there was a positive correlation between the expression of NLRP3 and BRCC3 in EAOC tissues ($r = 0.65, P < 0.01$). Overexpression of BRCC3 significantly promoted cell proliferation, migration and invasion and inhibited cell apoptosis in CRL-7566 cells (all $P < 0.01$); While knockdown of BRCC3 had the opposite effects (all $P < 0.01$). Over-

[基金项目] 上海市长宁区科学技术委员会课题资助项目 (No.CNKW2018Y18)

[作者简介] 刘彧 (1982—), 女, 硕士, 副主任医师, 主要从事妇科肿瘤的临床治疗研究, Email: wen_e@sohu.com

[通信作者] 杨钰, Email: yangyudele@163.com

expression of BRCC3 increased the expression level of NLRP3 ($P < 0.01$), while interference with BRCC3 inhibited the expression of NLRP3 ($P < 0.01$). Interference with NLRP3 partially attenuated the inhibition on cell apoptosis ($P < 0.01$) and promotion on cell migration ($P < 0.05$) and invasion ($P < 0.01$) brought by BRCC3 overexpression. **Conclusion:** Both NLRP3 and BRCC3 are highly expressed in EAOC and EMT tissues. Over-expression of BRCC3 can promote the proliferation, migration and invasion but inhibit apoptosis of CRL-7566 cells. BRCC3/NLRP3 is a potential predictive marker and treatment target for the transformation of EMT to EAOC.

[Key words] endometriosis (EMT); endometriosis-associated ovarian cancer (EAOC); NOD-like receptor protein 3 (NLRP3); BRCA1/BRCA2-containing complex, subunit 3 (BRCC3); CRL-7566 cell; proliferation; migration; invasion; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(1): 35-41. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.01.005]

子宫内膜异位症(endometriosis, EMT)是一种常见的炎症性妇科疾病,其与慢性盆腔疼痛或不孕症有关^[1]。众所周知,EMT是卵巢癌的风险因素之一,可进展为EMT相关卵巢癌(EMT-associated ovarian cancer, EAOC)^[2]。研究结果^[3-4]显示,EMT中存在多种与肿瘤相关的体细胞突变,可导致肿瘤抑制基因(如TP53和PTEN)的沉默以及癌基因(如KRAS和PIK3CA)的激活。目前,EMT进展为EAOC的作用机制尚无明确定论。近年来,相关研究指出,NOD样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体能以激活caspase-1的方式,促进IL-1 β 和IL-18的成熟和分泌,在组织损伤或功能障碍相关炎症反应中起重要作用^[5-7],并参与EMT的发生发展^[8-10]。另外,去泛素化酶含BRCA1/BRCA2的复杂亚基3(BRCA1/BRCA2-containing complex, subunit 3, BRCC3)的表达水平显示与细胞异常增殖有关^[11]。此外,研究^[12-13]发现,BRCC3可以在转录后调控NLRP3的激活。然而,BRCC3/NLRP3轴是否影响EMT和EAOC发生发展尚不清楚。本研究通过探讨NLRP3及其上游调节因子BRCC3在EMT向EAOC转变过程中的作用及其机制,旨在为阐明EMT进展为EAOC的作用机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取2018年4月至2019年6月上海市长宁区妇幼保健院收治的EAOC、EMT患者的组织标本及临床资料,以及其他妇科疾病(非EMT或卵巢癌)患者的正常子宫内膜组织(CON组)标本及临床资料。纳入标准:(1)符合中华医学会2015年制定的EMT的诊治指南中的诊断标准;(2)经病理检查确诊为卵巢癌;(3)在同一卵巢中EMT与癌变病灶并存,且组织学关系相类似;(4)光镜下观察异位内膜与癌变组织相连,存在良性异位病灶向恶性过渡的形态;(5)理解和沟通能力正常,自愿参与本研究,签署知情同意书。排除标准:(1)合并心、肝、肾等重要器官功能障碍的患者;(2)合并糖尿病、高血压、精神病的患者。研究方案经本院伦理委员会批准(伦理批准号:

CNFBLLKT-2018110604)。

1.2 细胞培养及主要试剂

EMT细胞系CRL-7566购自ATCC公司,在含10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)和100 U/mL青霉素的DMEM培养基中,于5% CO₂、37 °C条件下进行培养。本实验所用的DMEM培养基购自Hyclone公司,Opti-MEM、FBS血清、细胞培养用青霉素、0.25%胰酶消化液均购自Gibico公司,Lipofectamine 2000转染试剂购自Thermo公司,反转录试剂盒、SYBR Green Master Mix购自Vazyme公司,兔源BRCC3抗体购自Thermo公司、兔源NLRP3和 β -actin抗体均购自CST公司,ECL化学发光试剂购自Thermo公司。

1.3 CRL-7566细胞转染

待CRL-7566细胞汇合度达30%~50%时,将细胞培养液换成无血清培养液。按照Lipofectamine 2000说明书混合转染液,分别将2 μ g BRCC3过表达质粒(pc-BRCC3)及其阴性对照(pc-NC)质粒,10 nmol/L BRCC3或者NLRP3 siRNA及其si-NC转染至细胞,继续培养48 h,检测转染效率后,进行后续试验。

1.4 免疫组织化学染色法检测EAOC、EMT和正常子宫内膜组织中NLRP3和BRCC3的表达水平

将手术切除的新鲜EAOC、EMT和正常子宫内膜组织用10%甲醛溶液固定,常规石蜡包埋,4 μ m连续切片,常规脱蜡至水,用3%过氧化物酶阻断剂去除内源性过氧化物酶,微波下修复抗原;洗涤、封闭后,加入均以1:200稀释的NLRP3、caspase-1、IL-1 β 和BRCC3抗体,于4 °C过夜。次日,洗涤后加入生物素标记的二抗(1:1 000),室温下反应1 h,DAB显色、脱水、封片。光学显微镜下观察,每张切片随机选取5个视野并采集图像,使用ImageJ图像处理软件分析每张照片累积光密度(integral optical density, IOD),按照公式(平均光密度=IOD/目标分布区域面积)计算平均光密度。

1.5 qPCR法检测CRL-7566细胞中BRCC3 mRNA表达水平

收取细胞样品,向收集的细胞中加入1 mL TRIzol裂解液,加入无RNA酶的水溶解RNA,测定RNA浓度。

利用 PrimeScript RT 试剂盒中随机引物,将 500 ng 的总 RNA 反转录为 10 μ L 终体积的 cDNA。得到 cDNA 后,利用 ABI7500 仪器进行 qPCR 实验,测定细胞中 BRCC3 mRNA 表达水平。引物序列:BRCC3 上游引物为 5'-AACAGAGGCAGAGAGGTTGG-3',下游引物为 5'-AGCAAGTGTAGAGTACCCGG-3'; β -actin 上游引物为 5'-GTGGACATCCGCAAAGAC-3',下游引物为 5'-GAAAGGGTGTAACGCAACT-3'。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min,95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,60 $^{\circ}$ C 退火与延伸 30 s,共 40 个循环。以 β -actin 作为内参照,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 BRCC3 mRNA 的相对表达量。

1.6 MTT 法检测 CRL-7566 细胞的增殖能力

取汇合度 80%~90% 的细胞制成细胞悬液,按 5×10^5 个/孔接种于六孔板中,24 h 后进行转染。转染 48 h 后制成细胞悬液,取出并计数,按 3×10^3 个/孔加入 96 孔板中。每组 3 个重复,分别设置 0、24、48、72 h 四个时间点检测细胞的增殖情况。细胞铺板后,在培养第 0、24、48、72 h 时加入 MTT 溶液(10 μ L/孔),继续在培养箱中处理 30 min 后,酶标仪在 570 nm 处检测各孔细胞的光密度(D)值,并绘制细胞增殖曲线图。

1.7 流式细胞术检测 CRL-7566 细胞的凋亡水平

取对数生长期的 CRL-7566 细胞,使用胰酶消化并收集细胞,用缓冲液调整细胞密度为 1×10^6 个/mL,每管加入 5 μ L Annexin V 和 2 μ L PI 染色液,混匀之后继续在避光条件下处理 15 min,上流式细胞仪检测细胞的凋亡水平。

1.8 Transwell 实验检测 CRL-7566 细胞的迁移和侵袭能力

转染后 24 h,用无血清的 DMEM 培养液配成单细胞悬液,调整细胞密度为 5×10^5 个/mL,向每个 Transwell 小室的上室加入 100 μ L 细胞悬液,下室加入 600 μ L 含 10% 血清的 DMEM 培养基,小室放入 24 孔板内。做侵袭实验需预先在 Transwell 小室内铺 matrigel 胶,迁移实验不需铺 matrigel 胶;将 24 孔板放入培养箱中,37 $^{\circ}$ C、

5% CO₂ 培养 24 h。取出小室,PBS 洗 2 遍,用棉签小心擦去上室内层的细胞,甲醛固定 30 min,0.1% 结晶紫染色 20 min,在倒置显微镜下观察移至微孔膜外层的细胞,计算每个视野的平均细胞数。

1.9 WB 法检测 CRL-7566 细胞中 BRCC3、NLRP3 蛋白的表达水平

加入 200 μ L 含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的裂解液将细胞裂解,100 $^{\circ}$ C 煮样 10 min 使蛋白变性后,用 BCA 蛋白定量法检测蛋白浓度。取 30 μ g 蛋白样品,用 8% SDS-PAGE 分离蛋白质,并将蛋白质条带转至 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶中封闭 1 h 后,加入兔多克隆抗体 BRCC3(1:1 000 稀释)和 NLRP3(1:1 000 稀释)室温静置 2 h。洗膜后,加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗,室温下处理 1 h 后,ECL 试剂曝光、显影,以 β -actin 为内参照,分析蛋白条带的灰度值。

1.10 统计学处理

以上主要实验均独立重复 3 次。使用 SPSS 20.0 软件对实验数据进行统计分析,符合正态分布的计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间数据比较采用 *t* 检验,多重比较分析采用双向方差分析(two-ways ANOVA),计数资料使用百分比表示并进行 χ^2 检验,相关性分析采用 Pearson 分析,以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者的基线临床资料

本研究共纳入 EAOC、EMT 和其他妇科疾病患者(CON)各 15 例,如表 1 所示,EAOC 患者平均年龄显著大于 EMT 患者(54.3 岁 vs 36.7 岁, $P<0.05$),且肿瘤显著大于 EMT 患者水平;多数 EAOC 患者(13/15 例,86.7%)在早期就确诊,透明细胞和子宫内膜样肿瘤分别为 33.3% 和 66.7%。此外,EAOC 患者和 EMT 患者在妊娠、流产、CEA、AFP 等临床指标上差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。

表 1 研究对象的基线临床资料比较

临床特征	EAOC	EMT	CON	<i>P</i> (EAOC vs EMT)	<i>P</i> (EAOC vs CON)
年龄/岁	54.30 $\pm$ 7.10	36.70 $\pm$ 7.60	58.30 $\pm$ 8.80	<0.05	>0.05
妊娠/次	1.27 $\pm$ 0.52	1.40 $\pm$ 0.37	1.15 $\pm$ 0.44	>0.05	>0.05
流产/次	0.53 $\pm$ 0.20	0.75 $\pm$ 0.23	0.65 $\pm$ 0.35	>0.05	>0.05
肿瘤或囊肿的大小/cm	10.43 $\pm$ 2.46	7.33 $\pm$ 2.03	/	<0.05	/
CEA/(ng·mL ⁻¹)	1.68 $\pm$ 0.93	1.87 $\pm$ 0.82	1.94 $\pm$ 0.63	>0.05	>0.05
AFP/(ng·mL ⁻¹)	3.81 $\pm$ 1.63	3.21 $\pm$ 1.22	4.31 $\pm$ 1.29	>0.05	>0.05
CA125/(U·mL ⁻¹)	79.85 $\pm$ 12.36	63.73 $\pm$ 11.34	10.26 $\pm$ 2.38	<0.05	<0.05
CA199/(U·mL ⁻¹)	48.42 $\pm$ 10.67	24.53 $\pm$ 7.53	16.13 $\pm$ 5.62	<0.05	<0.05

2.2 NLRP3、caspase-1 和 IL-1 β 等炎症分子在 EMT 和 EAOE 组织中呈高表达

免疫组织化学染色法检测结果(图1)显示,与 CON 组织相比,EMT 和 EAOE 组织中 NLRP3、

caspase-1 和 IL-1 β 蛋白表达水平均显著升高(均 $P < 0.01$)。进一步分析染色结果发现, EAOE 组织中 NLRP3、caspase-1 和 IL-1 β 的蛋白水平均显著高于 EMT 组织(均 $P < 0.01$)。

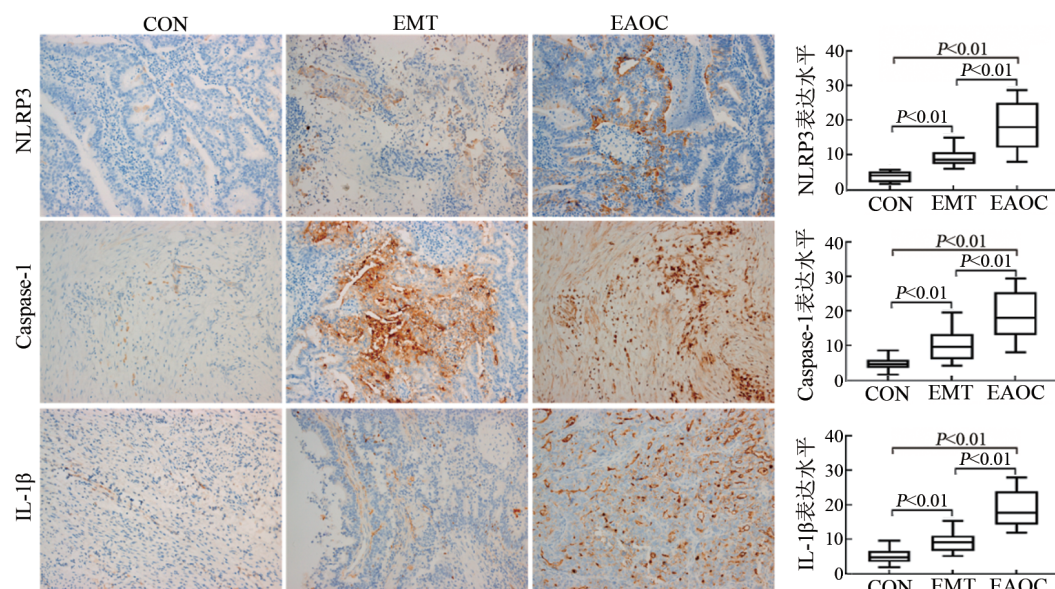
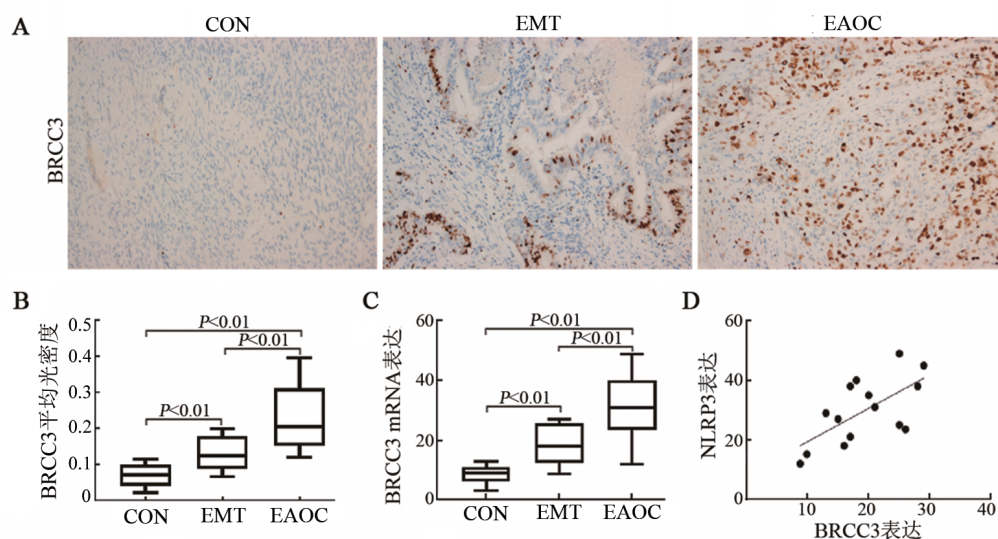


图1 EAOE、EMT 和 CON 组织中 NLRP3、caspase-1 和 IL-1 β 表达(免疫组织化学染色, $\times 200$)

2.3 EAOE 和 EMT 组织中 BRCC3 呈高表达

BRCC3 是 NLRP3 的上游调节因子。免疫组织化学染色结果(图 2A、2B)显示, EAOE 和 EMT 组织中的 BRCC3 蛋白表达水平显著高于 CON 组织(均 $P < 0.01$)。qPCR 法检测结果(图 2C)显示, EAOE 和 EMT 组

织中 BRCC3 mRNA 表达水平也显著高于 CON 组织(均 $P < 0.01$)。EAOE 组织中 BRCC3 mRNA 和蛋白表达水平均显著高于 EMT 组织(均 $P < 0.01$)。经 Pearson 分析后发现, EAOE 组织中 BRCC3 与 NLRP3 表达呈显著正相关性($r = 0.65$, $P < 0.01$; 图 2D)。



A 和 B: 免疫组织化学染色法检测 BRCC3 表达水平($\times 200$); C: qPCR 法检测 BRCC3 mRNA 表达; D: BRCC3 与 NLRP3 表达的相关性分析

图2 EMT 和 EAOE 组织中 BRCC3 表达及其与 NLRP3 表达的相关性分析

2.4 BRCC3 参与 EMT 的恶性转变

为分析 BRCC3 在 EMT 炎症转化中的生物学功能, 在 CRL-7566 细胞中通过分别转染 BRCC3 过表达质粒或 BRCC3 siRNA 后, 通过检测细胞的增殖能力、凋亡水平和侵袭能力进行综合分析。WB 法检测结果(图 3A)显示, 与对照组比较, BRCC3 过表达组细胞中 BRCC3 蛋白的表达水平显著升高(0.49 ± 0.07 vs 0.16 ± 0.02 , $P < 0.01$); si-BRCC3 细胞中 BRCC3 蛋白的表达水平显著降低(0.31 ± 0.05 vs 0.66 ± 0.02 , $P < 0.01$)。实验结果表明, 在 CRL-7566 细胞中成功过表达或敲减 BRCC3, 可以进行后续细胞功能学实验。

过表达 BRCC3 会增强 NLRP3 的表达水平, 干扰 BRCC3 表达会抑制 NLRP3 表达。MTT 法检测

(图 3B)显示, CRL-7566 细胞的增殖能力在 BRCC3 过表达时得到显著增强($P < 0.01$); 相反, 敲减 BRCC3 表达则明显抑制细胞的增殖能力($P < 0.01$)。流式细胞术检测结果(图 3C)显示, 相较于对照组(pc-NC), BRCC3 过表达可显著降低细胞凋亡率($P < 0.01$), 而干扰 BRCC3 表达则上调细胞的凋亡率($P < 0.01$)。Transwell 实验结果(图 3D)显示, BRCC3 过表达可以增强细胞的迁移和侵袭能力(均 $P < 0.01$), 而 BRCC3 干扰后则明显抑制迁移和侵袭能力(均 $P < 0.01$)。以上结果表明, BRCC3 过表达提高 CRL-7566 细胞的增殖、迁移和侵袭能力并抑制其凋亡, 而干扰 BRCC3 表达则抑制细胞的增殖、迁移和侵袭能力并促进其凋亡, 说明 BRCC3 影响着 EMT 向 EAOC 的转化。

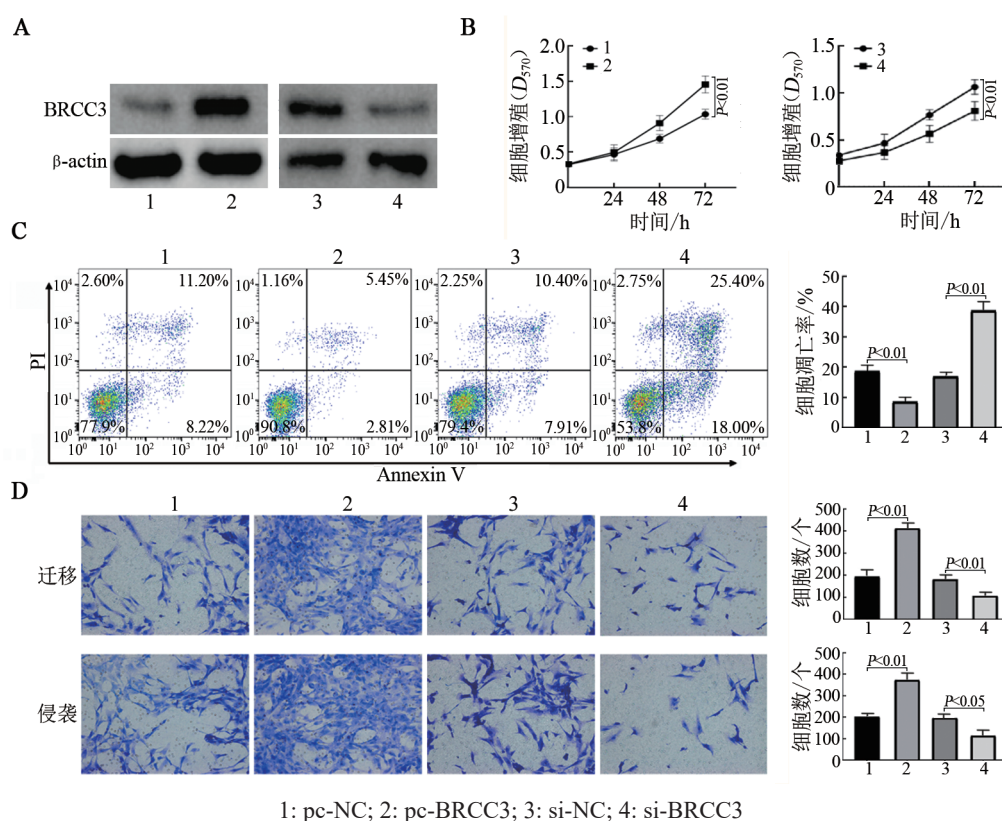
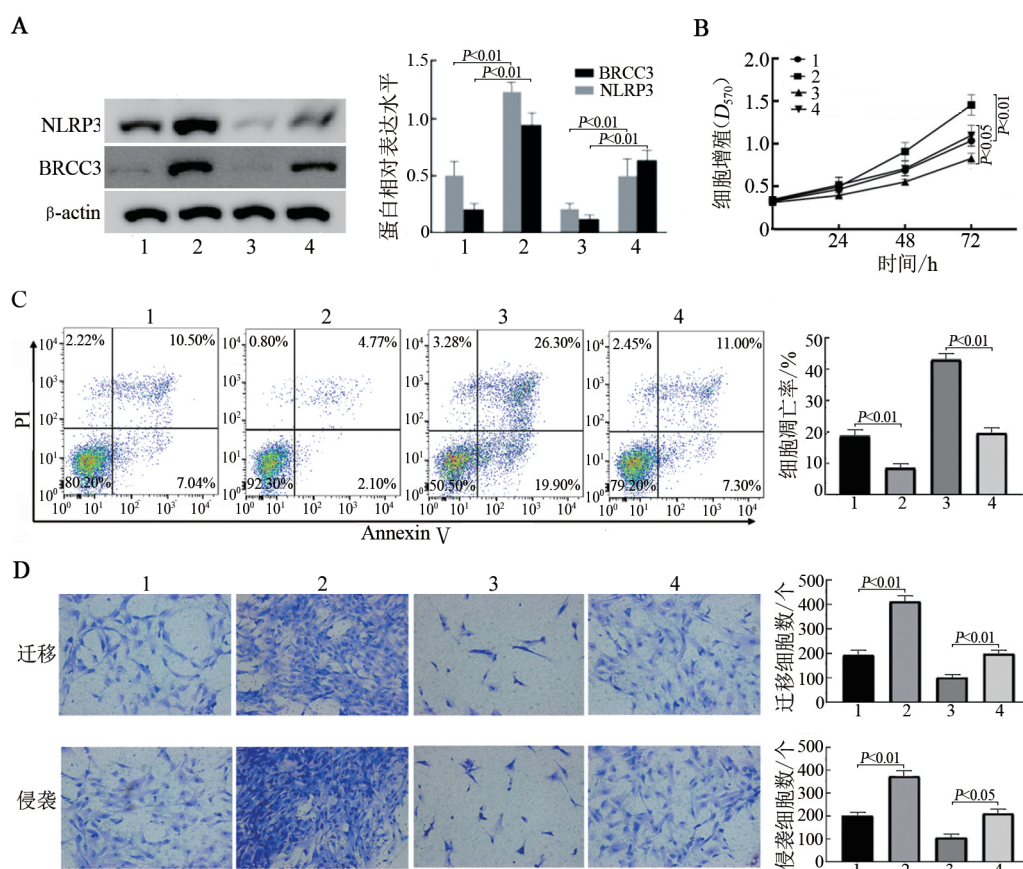


图3 过表达或干扰 BRCC3 基因对 CRL-7566 细胞 BRCC3 和 NLRP3 蛋白表达(A)、细胞增殖(B)、凋亡(C)、迁移和侵袭(D, $\times 200$)的影响

2.5 BRCC3/NLRP3 通路参与调控 EMT 细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭

为了分析 BRCC3/NLRP3 通路在 EMT 炎症转化过程中的调节作用, 在 CRL-7566 细胞上进行了过表达 BRCC3、干扰 NLRP3 和过表达 BRCC3+干扰 NLRP3 实验。WB 法检测结果(图 4A)显示, 过表达 BRCC3、干扰 NLRP3 或者过表达 BRCC3+干扰 NLRP3 在 CRL-7566 细胞上均成功进行了相关干预。对比过表达 BRCC3 和过表达 BRCC3+干扰 NLRP3 组的 MTT 实

验结果(图 4B)显示, 干扰 NLRP3 可以部分逆转 BRCC3 的促增殖作用, 尤其是在 48~72 h 时可以观测到干扰 NLRP3 显著抑制细胞的增殖作用($P < 0.01$)。流式细胞术检测结果(图 4C)显示, 干扰 NLRP3 可以部分逆转 BRCC3 抑制细胞凋亡的作用($P < 0.01$)。Transwell 实验结果(图 4D)显示, 干扰 NLRP3 可以部分逆转 BRCC3 促进细胞迁移($P < 0.05$)和侵袭($P < 0.01$)的作用。实验结果表明, BRCC3/NLRP3 通路参与调控 EMT 细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭过程。



1: pc-NC; 2: pc-BRCC3; 3: si-NLRP3; 4: pc-BRCC3+si-NLRP3

A: WB法检测转染后细胞中BRCC3和NLRP3的表达水平; B: MTT法检测转染后细胞的增殖水平;

C: 流式细胞术检测转染后细胞的凋亡水平; D: Transwell实验检测转染后细胞的迁移和侵袭能力(结晶紫染色, $\times 200$)

图4 BRCC3/NLRP3通路参与EMT细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭

3 讨论

EMT虽为良性病变,但其生物学行为表现出与卵巢恶性肿瘤一些共同特征,例如细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡^[14]。研究^[15]指出,EMT会增加上皮性卵巢癌的风险,但EMT向EAOC转变的机制尚不清楚。本研究评估了NLRP3炎症小体在EMT组织中的表达情况及部分生物学功能,研究结果显示,NLRP3炎症小体及其上游调节因子BRCC3参与EMT细胞的恶性转化进程,BRCC3/NLRP3信号轴有望成为新型药物的作用靶点。

研究结果^[16-19]发现,多个基因与EMT患者子宫内膜细胞的恶性转变相关。此外,炎症反应在肿瘤发生发展中具有关键作用,炎症还能干扰免疫监视和肿瘤对治疗的反应^[20]。越来越多的研究^[21]发现,炎症小体相关基因(如NLRP3、IL-1、TLR1和TNF等)在EMT和EAOC组织中表达水平不同,并且与患者不良预后相关,表明炎症小体在EMT恶性转变中具有重要的调控作用。

NLRP3炎症小体是一种参与炎症反应的蛋白复

合物,由NLRP3蛋白和凋亡相关的caspase-1组成,可促进IL-1 β 前体成熟^[6]。本研究发现,与正常子宫内膜组织相比,NLRP3、caspase-1和IL-1 β 在EAOC和EMT组织中表达水平均显著升高。既往的研究结果^[13,22-23]表明,BRCC3可通过去泛素化调控NLRP3炎症小体的活性,启动信号可通过赖氨酸特异的去泛素酶BRCC3促进NLRP3去泛素化,进而活化NLRP3炎症小体。本研究结果也表明,EAOC和EMT组织中BRCC3表达水平显著上调(均 $P < 0.01$),且BRCC3表达与NLRP3呈正相关性,提示在EMT组织恶性转变过程中BRCC3可能促进NLRP3炎症小体激活以及肿瘤进展。在此基础上,在CRL-7566细胞上的体外实验结果显示,BRCC3过表达促进了细胞增殖、迁移和侵袭,并抑制细胞凋亡。更进一步,在CRL-7566细胞上进行了过表达BRCC3、干扰NLRP3和过表达BRCC3+干扰NLRP3实验,结果证实了敲减NLRP3可以逆转BRCC3过表达对细胞增殖、迁移和侵袭的促进作用和细胞凋亡的抑制作用。

本研究结果还需要在动物模型中进一步验证和讨论。此外,BRCC3表达水平受到哪些信号影响,还

需要做进一步探索, 力争通过多种实验结果进一步阐明 BRCC3/NLRP3 信号通路对 EMT 炎症转化的分子发生机制, 为 EMT 炎症转化的治疗提供潜在的治疗靶点和基础依据。

[参 考 文 献]

- [1] VANNUCCINI S, CLEMENZA S, ROSSI M, *et al.* Hormonal treatments for endometriosis: the endocrine background[J/OL]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2022, 23(3): 333-355[2022-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9156507/>. DOI: 10.1007/s11154-021-09666-w.
- [2] VARGA J, REVICZKÁ A, HÁKOVÁ H, *et al.* Predictive factors of endometriosis progression into ovarian cancer[J/OL]. *J Ovarian Res*, 2022, 15(1): 5[2022-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8751310/>. DOI:10.1186/s13048-021-00940-8.
- [3] RUDERMAN R, PAVONE M E. Ovarian cancer in endometriosis: an update on the clinical and molecular aspects[J]. *Minerva Ginecol*, 2017, 69(3): 286-294. DOI:10.23736/S0026-4784.17.04042-4.
- [4] MURAKAMI K, KOTANI Y, NAKAI H, *et al.* Endometriosis-associated ovarian cancer: the origin and targeted therapy[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(6): E1676[2022-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7352633/>. DOI: 10.3390/cancers12061676.
- [5] SONG N, LI T. Regulation of NLRP3 inflammasome by phosphorylation[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2305[2022-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6186804/>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02305.
- [6] KELLEY N, JELTEMA D, DUAN Y H, *et al.* The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): E3328[2022-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6651423/>. DOI: 10.3390/ijms20133328.
- [7] QIU Y B, HUANG Y M, CHEN M L, *et al.* Mitochondrial DNA in NLRP3 inflammasome activation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 108: 108719. DOI:10.1016/j.intimp.2022.108719.
- [8] BULLON P, NAVARRO J M. Inflammasome as a key pathogenic mechanism in endometriosis[J]. *Curr Drug Targets*, 2017, 18(9): 997-1002. DOI:10.2174/1389450117666160709013850.
- [9] ZHOU F, LI C, ZHANG S Y. NLRP3 inflammasome: a new therapeutic target for high-risk reproductive disorders?[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 134(1): 20-27. DOI:10.1097/CM9.0000000000001214.
- [10] HANG Y Y, TAN L, CHEN Q, *et al.* E3 ubiquitin ligase TRIM24 deficiency promotes NLRP3/caspase-1/IL-1 β -mediated pyroptosis in endometriosis[J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45(7): 1561-1570. DOI: 10.1002/cbin.11592.
- [11] BOUDREAU H E, BROUSTAS C G, GOKHALE P C, *et al.* Expression of BRCC3, a novel cell cycle regulated molecule, is associated with increased phospho-ERK and cell proliferation[J]. *Int J Mol Med*, 2007, 19(1): 29-39.
- [12] PY B F, KIM M S, VAKIFAHMETOGLU-NORBERG H, *et al.* Deubiquitination of NLRP3 by BRCC3 critically regulates inflammasome activity[J]. *Mol Cell*, 2013, 49(2): 331-338. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.11.009.
- [13] RAO Z B, CHEN X, WU J X, *et al.* Vitamin D receptor inhibits NLRP3 activation by impeding its BRCC3-mediated deubiquitination[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2783[2022-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6904361/>. DOI:10.3389/fimmu.2019.02783.
- [14] PROWSE A H, MANEK S, VARMA R, *et al.* Molecular genetic evidence that endometriosis is a precursor of ovarian cancer[J]. *Int J Cancer*, 2006, 119(3): 556-562. DOI:10.1002/ijc.21845.
- [15] PĂVĂLEANU I, LOZNEANU L, BALAN R A, *et al.* Insights into molecular pathways of endometriosis and endometriosis-related ovarian carcinoma[J/OL]. *Revue Roumaine De Morphol Embryol*, 2020, 61(3): 739-749[2022-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8112801/>. DOI:10.47162/RJME.61.3.12.
- [16] HAIDARALI E, VAHEDI A, MOHAJERI S H, *et al.* Evaluation of the pathogenesis of tumor development from endometriosis by estrogen receptor, P53 and bcl-2 immunohistochemical staining[J/OL]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(12): 5247-5250[2022-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454666/>. DOI:10.22034/APJCP.2016.17.12.5247.
- [17] XU X R, WANG X, ZHANG H, *et al.* The clinical significance of the combined detection of serum Smac, HE4 and CA125 in endometriosis-associated ovarian cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2018, 21(2): 471-477. DOI:10.3233/CBM-170720.
- [18] BARRETA A, SARIAN L O, FERRACINI A C, *et al.* Immunohistochemistry expression of targeted therapies biomarkers in ovarian clear cell and endometrioid carcinomas (type I) and endometriosis[J]. *Hum Pathol*, 2019, 85: 72-81. DOI: 10.1016/j.humpath.2018.10.028.
- [19] ANDERSEN C L, BOISEN M M, SIKORA M J, *et al.* The evolution of estrogen receptor signaling in the progression of endometriosis to endometriosis-associated ovarian cancer[J]. *Horm Cancer*, 2018, 9(6): 399-407. DOI:10.1007/s12672-018-0350-9.
- [20] 张俊文, 苏延军, 李西川. 基于细胞焦亡机制的肿瘤免疫治疗新策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 29(8): 701-707. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.08.001.
- [21] CHANG C M, WANG M L, LU K H, *et al.* Integrating the dysregulated inflammasome-based molecular functionome in the malignant transformation of endometriosis-associated ovarian carcinoma[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 9(3): 3704-3726[2022-08-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5790494/>. DOI: 10.18632/oncotarget.23364.
- [22] CHENG X Y, XU S Y, ZHANG C H, *et al.* The BRCC3 regulated by Cdk5 promotes the activation of neuronal NLRP3 inflammasome in Parkinson's disease models[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 522(3): 647-654. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.11.141.
- [23] SINGH M, KUMARI B, YADAV U C S. Regulation of oxidized LDL-induced inflammatory process through NLRP3 inflammasome activation by the deubiquitinating enzyme BRCC36[J]. *Inflamm Res*, 2019, 68(12): 999-1010. DOI:10.1007/s00011-019-01281-5.

[收稿日期] 2022-08-03

[修回日期] 2022-12-26

[本文编辑] 党瑞山