

NDRG1/3 在肿瘤中的作用研究进展

刘翔^{1,2}, 凌志强^{1,2}

(1. 温州医科大学检验医学院 生命科学学院, 浙江 温州 325035;

2. 浙江省肿瘤医院, 浙江省肿瘤研究所, 浙江 杭州 310022)

摘要: N-myc 下游调节基因(N-myc downstream regulated gene, NDRG)家族由 NDRG1-4 4 个成员组成, 相互之间具有很高的氨基酸同源性。NDRG 家族成员在不同物种间表达具有高度保守性, 而在不同组织间分布有较大差异。近年来, 研究发现 NDRG 家族成员在多种肿瘤中表达异常, 并与肿瘤进展和预后相关, 是潜在的肿瘤诊断、预后评价标志物和治疗靶标。

关键词: 肿瘤; NDRG; 细胞分化; 肿瘤转移

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2015)12-1018-04

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2015.12.A013

Research Progress in NDRG1 and NDRG3 in Human Malignancies

LIU Xiang^{1,2}, LING Zhi-qiang^{1,2}

(1. School of Laboratory Medicine and Life Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; 2. Cancer Research Institute, Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, China)

Abstract: The N-myc downstream regulated gene (NDRG) family contains 4 members, NDRG1~4, which share a high degree of amino acid identity. NDRG family is well conserved through evolution, but show distinct tissue distribution. In recent years, it was reported that members of NDRG family were aberrant expression in various of human malignancies and involved progress and prognosis of cancer. Thus NDRG is considered to be a potential biomarker for diagnosis and prognosis evaluation, targeted therapy.

Key words: neoplasm; N-myc downstream regulated gene; cell differentiation; neoplasm metastasis

N-myc 下游调节基因 (N-myc downstream regulated gene, NDRG) 家族包括 NDRG1、NDRG2、NDRG3、NDRG4 四个成员, 相互之间具有很高的氨基酸同源性, 其中 NDRG1 和 NDRG3 为同一亚家族, 氨基酸同源性 67%; NDRG2 和 NDRG4 为同一亚家族, 氨基酸同源性高达 58%。NDRG 家族分子结构中均具有 α/β 水解酶(α/β hydrolase, ABH)结构, 隶属 ABH 水解酶超家族, 由于缺少必要的活化位点, NDRG 家族并无 ABH 水解酶活性; 除此之外, NDRG 家族基因启动子区域均具有一个 CpG 岛结构, 可以被甲基化修饰^[1]。NDRG 家族在不同物种间的表达具有高度保守性, 但在不同组织间分布差异较

大, 表明 NDRG 家族在生命活动中具有重要意义^[2]。近年来, 已发现 NDRG 家族成员在多种肿瘤中表达异常并与肿瘤发生进展和预后相关^[1]。当前, 国内外对 NDRG 家族的研究主要集中在 NDRG 家族在肿瘤中的表达、作用机制及临床意义方面。

1 NDRG1/3 分子结构和组织分布

NDRG1 是第一个被发现的 NDRG 家族成员, 因其与细胞分化相关, 被命名为分化相关基因(differentiation-related gene 1, Drg1)^[3]。NDRG1 由于分别在不同细胞中发现, 先后被命名为 Ndr1、RTP、rit42、Cap43 等, 后来正式命名为 NDRG1^[4]。人类 NDRG1 基因位于染色体 8q24, 包含 16 个外显子和 15 个内含子, 其 mRNA 全长约 3.0kb, 编码具有 394 个氨基酸残基、相对分子量为 43kD 的蛋白, 参与细

收稿日期: 2015-05-26; 修回日期: 2015-09-26

基金项目: 浙江省自然科学基金重点项目(LZ13H160002), 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目, 浙江省新世纪 151 人才工程重点资助项目

通讯作者: 凌志强, E-mail: lingzq@zjcc.org.cn

胞生长分化、胚胎发育等多种过程。NDRG1 主要在胞浆中表达,广泛分布于人体各种组织^[1]。

人类 *NDRG3* 基因最早由 Zhao 等^[5]对多种人体组织器官进行大规模测序时发现,该基因定位于染色体 20q11.21~11.23,cDNA 长度为 2588bp,具有一个开放阅读框架,编码合成具有 363 个氨基酸残基、相对分子量为 43kDa 的蛋白。该基因与小鼠 *NDR3* 基因编码蛋白同源性高达 95.6%。*NDRG3* 主要表达于卵巢、前列腺、睾丸,进一步分析发现 *NDRG3* mRNA 表达与生精小管上皮有关,并且伴随着精子的发育过程,这种时空特异性的表达表明其在精子生成过程中具有重要作用。

2 NDRG1/3 在恶性肿瘤中的表达

近年来,*NDRG* 家族的研究主要集中于在恶性肿瘤中的表达及作用机制,其中 *NDRG1* 的研究最多,功能也最为复杂,而 *NDRG3* 的研究比较少。

目前研究认为,*NDRG1* 在肿瘤中的表达具有组织特异性;*NDRG1* 在不同类型的肿瘤中表达差异。在结直肠癌^[6]、前列腺癌^[7]、乳腺癌^[8]、胰腺癌^[9,10]、食管癌^[11]、胃癌^[12,13]等恶性肿瘤中表达下调,而在肺癌^[14]、宫颈癌^[15]、肝癌^[4,16]等恶性肿瘤中表达上调,并且 *NDRG1* 在癌组织中的异常表达与肿瘤恶性进展和不良预后密切相关。

相对于 *NDRG1* 在肿瘤中的广泛研究,*NDRG3* 研究较少。*NDRG3* 在前列腺癌中的表达显著性上调,并与肿瘤恶性进展和不良预后相关^[17,18]。在肝癌中,*NDRG3* 表达上调,而正常肝组织中几乎不表达^[19,20]。在其他肿瘤中尚未见相关报道。

3 NDRG1/3 在肿瘤中的作用机制研究

3.1 NDRG1 在肿瘤中的作用机制

目前研究表明 *NDRG1* 能够调节多种不同信号通路,在不同类型肿瘤中具有不同作用。*NDRG1* 主要通过调节细胞增殖、侵袭转移和血管生成、周期和凋亡等几个方面在肿瘤发生发展中发挥作用。

3.1.1 NDRG1 与肿瘤侵袭转移

NDRG1 最初被认为具有抑制肿瘤转移作用。*NDRG1* 在结肠癌转移灶和转移性细胞系中表达显

著性低于原发肿瘤和非转移细胞系,而稳转了 *NDRG1* 的结肠癌细胞系 SW620 细胞发生形态改变、分化标志物(癌胚抗原、碱性磷酸酶、E-钙黏蛋白等)表达增加,细胞体外侵袭和体内转移能力减低,表明 *NDRG1* 可能通过诱导结肠癌细胞分化发挥抑制肿瘤转移的作用^[6]。*Wnt* 信号通路在肿瘤转移中具有重要作用,Liu 等^[21]、Jin 等^[22]发现 *NDRG1* 能够抑制 *Wnt/β*-连环蛋白通路激活抑制上皮间充质转化(epithelial mesenchymal transition,EMT),进而抑制前列腺癌细胞转移。在胃癌中,过表达 *NDRG1* 抑制胃癌细胞 SGC7901 体外增殖、侵袭和转移能力^[12],而在另外一组研究中,Ureshino 等^[23]通过敲除高转移性胃癌细胞中 *NDRG1* 的表达,导致细胞发生 EMT (E-钙黏蛋白表达上调,波形蛋白和 Snail 蛋白表达下调),进而抑制异种移植肿瘤的侵袭和转移,表明 *NDRG1* 通过促进 EMT 促进胃癌细胞转移。

3.1.2 NDRG1 与肿瘤血管生成

NDRG1 在不同肿瘤中对血管生成中的作用不同,可能与不同的肿瘤类型中调节不同的信号通路有关。在胰腺癌中,过表达 *NDRG1* (Cap43)能够抑制异种移植肿瘤生长和体外细胞侵袭转移能力,且显著性减少肿瘤微血管密度 (microvessel density, MVD)^[10]。进一步分析表明,胰腺癌中过表达 *NDRG1* 通过抑制 *NF-κB* 信号通路下游血管生成相关的血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、白介素 8 (interleukin-8, IL-8, 即 CXCL8)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinases-9, MMP9) 的表达,抑制肿瘤血管生成^[9]。而与之相反,宫颈癌中 *NDRG1* 高表达与肿瘤 MVD 和 VEGF 表达显著性相关^[15]。敲除 *NDRG1* 表达,导致肺癌细胞异种移植肿瘤生长减慢、MVD 显著性减少和 VEGF、IL-8 的表达显著性减少,此外,肺癌(鳞癌和腺癌)组织样本中核 *NDRG1* 表达水平与肿瘤 MVD 也具有显著性相关^[14]。

3.1.3 NDRG1 与肿瘤细胞增殖

NDRG1 能够通过多种途径调节肿瘤细胞的增殖。肝癌中,*NDRG1* 通过诱导肿瘤细胞凋亡、细胞周期阻滞和调节多种衰老相关信号通路 (p53、p21、p16、Rb 等)影响肝癌细胞增殖^[16,24];此外,*NDRG1* 能够抑制胃癌细胞增殖^[13],但不影响胰腺癌和肺癌细胞体外增殖能力^[10,14]。

3.1.4 NDRG1 与肿瘤细胞周期和凋亡

Cheng J 等^[16]通过敲除 NDRG1 的表达能够诱导肝癌细胞早期凋亡和细胞周期阻滞在 G₁ 期,从而抑制肿瘤的生长。但是 Akiba 等^[25]发现过表达 NDRG1 导致肝癌细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期,这种差异可能是由于 NDRG1 在不同条件下调控不同信号通路所致。此外,过表达 NDRG1 能够诱导胃癌细胞早期凋亡^[12]和周期阻滞在 G₁ 期^[13]。

3.2 NDRG3 在肿瘤中的作用机制

目前,NDRG3 在肿瘤中的作用研究还比较少。Wang 等^[17]发现过表达 NDRG3 能够促进前列腺癌细胞增殖、迁移和裸鼠异种移植肿瘤的生长,芯片分析表明,NDRG3 能够上调多种血管生成趋化因子的表达。而在肝癌中,NDRG3 作为 miR122(肝特异性 miRNA,其表达下调与肝癌生成相关)的调节靶点,与 HBV 复制和 HBV 相关肝癌细胞增殖相关^[19]。

缺氧是肿瘤发生进展的一大特征,最近 Lee 等^[20]报道了 NDRG3 在缺氧条件下的表达及调节:常氧和缺氧早期,NDRG3 被 HIF1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , 缺氧诱导因子 1 α) 调节的 PHD2/VHL (prolyl hydroxylase-2, 脯氨酸羟化酶 2; von Hippel-Lindau protein, 希佩尔林道蛋白) 通路通过泛素化降解,而在缺氧晚期阶段,糖酵解产生的乳酸盐与 NDRG3 稳定结合,抑制 PHD2/VHL 的泛素化作用,从而上调 NDRG3 表达,进而激活 Raf-ERK 通路,促进细胞增殖、血管生成和抑制细胞凋亡,最终促进肿瘤的生成和进展。

4 NDRG1/3 在肿瘤诊疗中的应用

诱导分化治疗是指通过诱导恶性肿瘤细胞分化、逆转肿瘤细胞恶性表型从而达到治疗恶性肿瘤目的的治疗方法。诱导分化治疗在造血系统恶性肿瘤中已应用多年,特别是全反式维甲酸治疗急性早幼粒细胞性白血病,因其效果显著且毒副作用小而得到广泛认可。Guan 等^[6]将过表达 NDRG1 基因的表达载体导入结肠癌细胞系 SW620 细胞中,发现该基因能够诱导细胞形态改变、细胞分化标志物(癌胚抗原、碱性磷酸酶、E-钙黏蛋白)表达增加,体外侵袭和体内转移能力显著性降低,此外,NDRG1 的表达能够被 PPAR γ 配体、维甲酸受体及 DNA 甲基化和

组蛋白乙酰化试剂等多种试剂调控,表明 NDRG1 或许可以作为潜在的诱导分化治疗肿瘤的靶点。最近 Liu 等^[21]应用药物诱导 NDRG1 表达显著性抑制乳腺癌细胞转移,也进一步验证了通过 NDRG1 诱导肿瘤细胞分化治疗的可行性。

血管生成在肿瘤的生长、侵袭和转移过程中具有非常重要的作用,临床上抑制肿瘤血管生成已经成为肿瘤治疗的一大策略^[26]。NDRG1 能够调节胰腺癌和肺癌血管生成影响肿瘤的进展和转移^[9,14],因此可以考虑将 NDRG1 作为新的靶点,用于肿瘤抗血管治疗。此外,NDRG1 与肿瘤耐药性也有一定关系:有研究报道发现诱导 NDRG1 的表达能够改善肝癌细胞对维甲酸和阿霉素的耐药性^[27],而肿瘤细胞耐药是肿瘤复发和治疗失败的重要原因之一,通过改善肿瘤耐药性对于提高抗癌药物疗效将具有重要意义。

此外,NDRG1/3 的异常表达与多种肿瘤恶性进展、复发和不良预后密切相关,或许能够作为潜在的判断肿瘤进展和预后评估的标志物。

5 展 望

随着研究的深入进展,越来越多的证据表明 NDRG1/3 能够调节影响细胞增殖、侵袭转移和肿瘤血管生成相关的多种信号通路,在肿瘤发生发展中具有重要作用。此外,NDRG1/3 的异常表达与肿瘤恶性进展、转移、复发和不良预后密切相关,可以作为潜在的肿瘤进展和预后评估的标志物,不仅如此,通过调节 NDRG1/3 的表达抑制肿瘤细胞增殖、转移、肿瘤血管生成和改善肿瘤抗药性,或许能够成为新的肿瘤治疗方法。因此,深入研究 NDRG1/3 在肿瘤中的作用将对阐明肿瘤调控机制及治疗具有重要的意义。

参考文献:

- [1] Melotte V, Qu X, Ongenaert M, et al. The N-myc downstream regulated gene (NDRG) family: diverse functions, multiple applications[J]. FASEB J, 2010, 24(11): 4153-4166.
- [2] Yang X, An L, Li X. NDRG3 and NDRG4, two novel tumor-related genes [J]. Biomed Pharmacother, 2013, 67(7): 681-684.
- [3] Shimono A, Okuda T, Kondoh H. N-myc-dependent repression of ndr1, a gene identified by direct subtraction of

- whole mouse embryo cDNAs between wild type and N-myc mutant[J]. *Mech Dev*, 1999, 83(1-2):39-52.
- [4] Lu WJ, Chua MS, So SK. Suppressing N-Myc downstream regulated gene 1 reactivates senescence signaling and inhibits tumor growth in hepatocellular carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(4):915-922.
 - [5] Zhao W, Tang R, Huang Y, et al. Cloning and expression pattern of the human NDRG3 gene [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1519(1-2):134-138.
 - [6] Wangpu X, Yang X, Zhao J, et al. The metastasis suppressor, NDRG1, inhibits "stemness" of colorectal cancer via down-regulation of nuclear beta-catenin and CD44[J]. *Oncotarget*, 2015, Sep 18. [Epub ahead of print].
 - [7] Li Y, Pan P, Qiao P, et al. Downregulation of N-myc downstream regulated gene 1 caused by the methylation of CpG islands of NDRG1 promoter promotes proliferation and invasion of prostate cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(3):1001-1008.
 - [8] Bandyopadhyay S, Pai SK, Hirota S, et al. Role of the putative tumor metastasis suppressor gene Drg-1 in breast cancer progression[J]. *Oncogene*, 2004, 23(33):5675-5681.
 - [9] Hosoi F, Izumi H, Kawahara A, et al. N-myc downstream regulated gene 1/Cap43 suppresses tumor growth and angiogenesis of pancreatic cancer through attenuation of inhibitor of kappaB kinase beta expression [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(12):4983-4991.
 - [10] Maruyama Y, Ono M, Kawahara A, et al. Tumor growth suppression in pancreatic cancer by a putative metastasis suppressor gene Cap43/NDRG1/Drg-1 through modulation of angiogenesis[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(12):6233-6242.
 - [11] Ando T, Ishiguro H, Kimura M, et al. Decreased expression of NDRG1 is correlated with tumor progression and poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Dis Esophagus*, 2006, 19(6):454-458.
 - [12] Jiang K, Shen Z, Ye Y, et al. A novel molecular marker for early detection and evaluating prognosis of gastric cancer: N-myc downstream regulated gene-1 (NDRG1)[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2010, 45(7-8):898-908.
 - [13] Chang X, Xu X, Ma J, et al. NDRG1 expression is related to the progression and prognosis of gastric cancer patients through modulating proliferation, invasion and cell cycle of gastric cancer cells[J]. *Molecular Biology Reports*, 2014, 41(9):6215-6223.
 - [14] Azuma K, Kawahara A, Hattori S, et al. NDRG1/Cap43/Drg-1 may predict tumor angiogenesis and poor outcome in patients with lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(5):779-789.
 - [15] Nishio S, Ushijima K, Tsuda N, et al. Cap43/NDRG1/Drg-1 is a molecular target for angiogenesis and a prognostic indicator in cervical adenocarcinoma [J]. *Cancer Letters*, 2008, 264(1):36-43.
 - [16] Cheng J, Xie HY, Xu X, et al. NDRG1 as a biomarker for metastasis, recurrence and of poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Letters*, 2011, 310(1):35-45.
 - [17] Wang W, Li Y, Li Y, et al. NDRG3 is an androgen regulated and prostate enriched gene that promotes in vitro and in vivo prostate cancer cell growth [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(3):521-530.
 - [18] Ren GF, Tang L, Yang AQ, et al. Prognostic impact of NDRG2 and NDRG3 in prostate cancer patients undergoing radical prostatectomy [J]. *Histol Histopathol*, 2014, 29(4):535-542.
 - [19] Fan CG, Wang CM, Tian C, et al. miR-122 inhibits viral replication and cell proliferation in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma and targets NDRG3 [J]. *Oncology Reports*, 2011, 26(5):1281-1286.
 - [20] Lee DC, Sohn HA, Park ZY, et al. A lactate-induced response to hypoxia[J]. *Cell*, 2015, 161(3):595-609.
 - [21] Liu W, Xing F, Iizumi-Gairani M, et al. N-myc downstream regulated gene 1 modulates Wnt-beta-catenin signalling and pleiotropically suppresses metastasis[J]. *EMBO Mol Med*, 2012, 4(2):93-108.
 - [22] Jin R, Liu W, Menezes S, et al. The metastasis suppressor NDRG1 modulates the phosphorylation and nuclear translocation of beta-catenin through mechanisms involving FRAT1 and PAK4 [J]. *J Cell Sci*, 2014, 127 (Pt 14):3116-3130.
 - [23] Ureshino H, Murakami Y, Watari K, et al. N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1) promotes metastasis of human scirrhous gastric cancer cells through epithelial mesenchymal transition[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):e41312.
 - [24] Lu WJ, Chua MS, So SK. Suppressing N-Myc downstream regulated gene 1 reactivates senescence signaling and inhibits tumor growth in hepatocellular carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(4):915-922.
 - [25] Akiba J, Murakami Y, Noda M, et al. N-myc downstream regulated gene1/Cap43 overexpression suppresses tumor growth by hepatic cancer cells through cell cycle arrest at the G0/G1 phase[J]. *Cancer Letters*, 2011, 310(1):25-34.
 - [26] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer; the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5):646-674.
 - [27] Jung EU, Yoon JH, Lee YJ, et al. Hypoxia and retinoic acid-inducible NDRG1 expression is responsible for doxorubicin and retinoic acid resistance in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Cancer Letters*, 2010, 298(1):9-15.