

RNF180 在肿瘤中的作用机制及临床应用研究进展

黄显聪^{1,2}, 凌志强², 毛伟敏^{1,2}

(1.温州医科大学第一临床医学院, 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: RNF180 是一种新型的环指基因编码蛋白, 作为 E3 泛素蛋白连接酶参与细胞分化、增殖、各种疾病和肿瘤的发生等各种生物过程。RNF180 抑癌基因通过甲基化沉默或下调基因表达, 与肿瘤的发生及发展密切相关。已有相关研究表明, RNF180 基因的甲基化程度及其 CpG 甲基化位点与肿瘤患者生存显著相关, 在临床中可作为独立的预后因子。

关键词: RNF180; 肿瘤; 甲基化; 预后

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2016)01-0048-03

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2016.01.A009

Research Progress of Mechanism and Clinical Application of RNF180 in Tumor

HUANG Xian-cong^{1,2}, LING Zhi-qiang², MAO Wei-min^{1,2}

(1.The First Clinical College, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China;

2.Zhejiang Cancer Hospital, Zhejiang Cancer Research Institute, Hangzhou 310022, China)

Abstract: RNF180, a novel RING finger gene-encoded product, as a E3 ubiquitin protein ligase participates in most cellular processes such as differentiation, proliferation, disorders and tumorigenesis. RNF180 is an anti-oncogene, and its expression in cancers is silenced or downregulated through methylation, which is closely related to the occurrence and carcinogenesis of tumor. Some related studies has indicated that the methylation degree of RNF180 gene and its CpG methylation site were significantly correlated with tumor survival, which could be considered as independent prognostic factors in clinic.

Key words: RNF180; neoplasms; methylation; prognostic

RNF180 (ring finger protein 180) 是一个新颖的环指(RNF)蛋白家族成员, 是新型环指基因 RNF180 编码的产物。RNF180 在各种生物过程中, 如细胞周期、信号转导、DNA 修复等, 作为 E3 泛素蛋白连接酶在细胞的泛素—蛋白酶体系统 (ubiquitin proteasome system, UPS) 中起到至关重要的作用。已有相关研究表明, RNF180 基因在肿瘤中表现为抑癌基因作用, 与细胞分化、增殖、凋亡和肿瘤的发生密切相关, 并且通过甲基化在肿瘤中对 RNF180 表达进行沉默或下调。RNF180 甲基化状态可以作为一个独立的预后因子应用于临床诊疗。

收稿日期: 2015-06-02; 修回日期: 2015-08-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81172081), 浙江省科技重大专项(2011C13039-1)

通讯作者: 毛伟敏, E-mail: hxiancong@hotmail.com

1 RNF180 结构及作用机制

RNF180 基因在人类基因组中定位于 5q12.3^[1], 最早在筛选 Zic2 的结合对象的实验中发现^[2], 是一个新型的环指基序基因。已有研究表明, 具有环指基序结构的 RNF 蛋白家族成员有泛素连接酶活性和蛋白质泛素化功能^[3]。由 RNF180 基因编码的 RNF180 蛋白, 同其他大多数 RNF 家族成员一样具有 E3 泛素蛋白连接酶的活性并且属于环指型 E3s (Ring E3s)^[4]。

RNF180 蛋白通过 UPS 在细胞进程中起关键作用。在泛素—蛋白酶体途径中 RNF180 对目标蛋白泛素化是一个能量依赖性进程^[5], 且涉及到高度特异性的酶级联反应: E1 泛素活化酶—E2 泛素结合

酶-E3 泛素蛋白连接酶^[6,7]。RNF180 通过对底物的泛素化进而决定了其靶向特异性及时序性,在细胞信号转导、细胞凋亡、基因转录及 DNA 修复等介导蛋白降解^[8-10]。同样 RNF180 通过对自身泛素化进行自我调节^[11],避免细胞内 E3s 浓度过高。介于 UPS 在细胞进程中的重要作用,泛素-蛋白酶体系统的紊乱将会造成严重的后果,包括退行性疾病和癌症等^[12]。已有研究报道环指蛋白家族成员与肿瘤发生密切相关,RNF 蛋白在肿瘤中表达的异常下调表现为抑癌因子的作用^[13,14]。

2 RNF180 在肿瘤中的作用机制研究进展

在肿瘤发生和进展的研究中,有相关研究已表明 CpG 岛基因的异常甲基化与肿瘤抑制因子基因的失调紧密相关。CpG 岛基因的异常甲基化是导致许多人类恶性肿瘤的主要病因^[15,16],并且甲基化累积可以在肿瘤的发生和进展中持续进行^[17]。全基因组甲基化的筛选结果显示 *RNF180* 基因在肿瘤中优先进行甲基化^[18]。甲基化所致 *RNF180* 基因的沉默导致了 RNF180 蛋白酶体途径失调,在肿瘤发生和进展中起重要的作用。进一步的研究表明,RNF180 表达缺失和低表达与 *RNF180* 基因核心启动子区域的甲基化呈负相关。

在 Cheung 等^[19]的研究中,明确了 *RNF180* 基因的转录起始位点和功能性核心启动子区(-202/+372)在 CpG 岛上,并且在胃癌的发生中 RNF180 表现为肿瘤抑制因子的作用。他们通过组织水平验证发现,原发性胃癌组织相对癌旁组织中 *RNF180* mRNA 和蛋白表达显著性下降,在胃癌的体外细胞株实验中 RNF180 经常性缺失和下调,以上结果均与 *RNF180* 基因核心启动子甲基化密切相关。同时研究还发现在胃癌细胞中,RNF180 的抗增殖能力与上调抗增殖调节因子 MTSS1 和 CDKN2A 相关^[20,21],RNF180 有抑制肿瘤细胞生长和促进凋亡的作用。

Deng 等^[22]的研究同样表明,RNF180 参与胃癌的发生与发展,并且 RNF180 启动子不一致的甲基化程度在胃癌组织中导致 RNF180 低表达或未表达,与 Cheung 等的研究结果相一致,同时他们的研究进一步确认了在功能性核心启动子区(-202/+

372)中的四个高度甲基化的 CpG 位点:-116,-80,+97 和+102。

Udali 等^[23]通过合并全基因组 DNA 甲基化与微阵列基因表达谱的研究方法,发现 DNA 启动子甲基化作为一个新的调节机制与酒精相关性肝癌密切相关,并确定了一些紧密相关的表观遗传调控抑癌基因。*RNF180* 基因作为其中一个抑癌基因,其启动子的高度甲基化在酒精相关性肝癌的发展中有着重要的调控作用。

通过 RNF180 在不同肿瘤中作用机制的研究,可以明确由于 RNF180 在泛素-蛋白酶体系统的重要作用 and RNF180 启动子的甲基化与 *RNF180* 基因沉默紧密相关,*RNF180* 基因甲基化会导致与 RNF180 相关的泛素-蛋白酶体系统紊乱,并在肿瘤的发生和进展中起到关键作用。

3 RNF180 在临床应用中的研究

RNF180 低表达或未表达与 T 分期、N 分期等与患者总生存期(OS)密切关联。进一步分析结果显示,甲基化程度与患者生存密切相关,8 个及以上位点甲基化的患者具有更差的生存。其中 CpG 位点(-116,-80,+97,+102)的甲基化联合与 OS 相关具有统计学意义,并且 CpG 位点联合甲基化同 N 分期一样可作为独立的预后因子。

Deng 等^[24]通过外周血的 RNF180 甲基化检测进一步研究 RNF180 甲基化状态在外周血中与相应组织中是相一致的,经统计分析,外周血 RNF180 启动子的甲基化状态及高度甲基化 CpG 位点数与 OS 紧密相关,并且通过 Cox 比例风险模型分析,外周血中的高度甲基化 CpG 位点数同 T 分期及 N 分期一样可作为独立的预后因子运用于临床诊疗中。

另外,RNF180 的甲基化通过联合检测其他标志物的甲基化可以提高其诊断的敏感度及特异性。在 Zhang 等^[25]的研究中,通过检测外周血中 RNF180、*DAPK1* 和 *SFRP2* 基因启动子的异常甲基化,统计分析比较单独及联合检测筛查胃癌患者的敏感度和特异性。结果显示,外周血中 RNF180 与 *SFRP2* 的联合检测最适合于胃癌诊断,具有 85.96%的敏感度和 47.62%特异性,优于其他组合或单独检测。由此可见,RNF180 联合其他标志物的甲基化检测可以

增加 RNF180 在临床作为检测标志物的可行性。

4 结 语

在已有的研究基础上,RNF180 作为 E3 泛素蛋白连接酶在 UPS 中所起的关键作用。在肿瘤中 RNF180 的表达通过甲基化进行沉默或下调,并通过蛋白酶体途径参与各种疾病和肿瘤的发生。*RNF180* 基因启动子的甲基化程度和甲基化 CpG 位点数与肿瘤的发生及患者 OS 密切相关,其中 CpG 位点(-116,-80,+97,+102)的甲基化联合更具有明显意义。临床上进一步研究证明,RNF180 的甲基化状态检测在临床应用诊疗中可以作为一个独立的预后因子。

虽然 RNF180 作为一个新型环指基因表达产物在多种疾病和癌症中发挥作用,但是具体作用的信号通路及机制仍需要进一步深入研究。全面了解 RNF180 的作用机制,深入研究其在肿瘤中作用,将为临床上肿瘤的诊疗提供新的思路和方法。

参考文献:

- [1] Strausberg RL,Feingold EA,Grouse LH,et al. Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length human and mouse cDNA sequences [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2002,99(26):16899-16903.
- [2] Mizugishi K,Hatayama M,Tohmonda T,et al. Myogenic repressor I-mfa interferes with the function of Zic family proteins[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2004,320(1):233-240.
- [3] Joazeiro CA,Weissman AM. RING finger proteins:mediators of ubiquitin ligase activity[J]. *Cell*,2000,102(5):549-552.
- [4] Ogawa M,Mizugishi K,Ishiguro A,et al. Rines/RNF180,a novel RING finger gene-encoded product,is a membrane-bound ubiquitin ligase[J]. *Genes Cells*,2008,13(4):397-409.
- [5] Doherty FJ,Dawson S,Mayer RJ. The ubiquitin-proteasome pathway of intracellular proteolysis [J]. *Essays Biochem*,2002,38:51-63.
- [6] Hershko A,Ciechanover A. The ubiquitin system[J]. *Annu Rev Biochem*,1998,67:425-479.
- [7] Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination [J]. *Annu Rev Biochem*,2001,70:503-533.
- [8] Ardley HC. Ring finger ubiquitin protein ligases and their implication to the pathogenesis of human diseases[J]. *Curr Pharm Des*,2009,15(31):3697-3715.
- [9] Bohgaki M,Bohgaki T,El Ghamrasni S,et al. RNF168 ubiquitylates 53BP1 and controls its response to DNA double-strand breaks [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2013,110(52):20982-20987.
- [10] Sheren JE,Kassenbrock CK. RNF38 encodes a nuclear ubiquitin protein ligase that modifies p53[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2013,440(4):473-478.
- [11] Wasch R,Engelbert D. Anaphase-promoting complex-dependent proteolysis of cell cycle regulators and genomic instability of cancer cells[J]. *Oncogene*,2005,24(1):1-10.
- [12] Zhou Z,Ji Z,Wang Y,et al. TRIM59 is up-regulated in gastric tumors,promoting ubiquitination and degradation of p53[J]. *Gastroenterology*,2014,147(5):1043-1054.
- [13] Nishikawa H,Wu W,Koike A,et al. BRCA1-associated protein 1 interferes with BRCA1/BARD1 RING heterodimer activity[J]. *Cancer Res*,2009,69(1):111-119.
- [14] Yin J,Zhu JM,Shen XZ. The role and therapeutic implications of RING-finger E3 ubiquitin ligases in hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Cancer*,2015,136(2):249-257.
- [15] Jones PA,Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer[J]. *Nat Rev Genet*,2002,3(6):415-428.
- [16] Kang GH,Lee HJ,Hwang KS,et al. Aberrant CpG island hypermethylation of chronic gastritis,in relation to aging,gender,intestinal metaplasia,and chronic inflammation[J]. *Am J Pathol*,2003,163(4):1551-1556.
- [17] Oue N,Mitani Y,Motoshita J,et al. Accumulation of DNA methylation is associated with tumor stage in gastric cancer[J]. *Cancer*,2006,106(6):1250-1259.
- [18] Liang G,Gonzalvo ML,Salem C,et al. Identification of DNA methylation differences during tumorigenesis by methylation-sensitive arbitrarily primed polymerase chain reaction[J]. *Methods*,2002,27(2):150-155.
- [19] Cheung KF,Lam CN,Wu K,et al. Characterization of the gene structure,functional significance,and clinical application of RNF180,a novel gene in gastric cancer[J]. *Cancer*,2012,118(4):947-959.
- [20] Xie F,Ye L,Ta M,et al. MTSS1:a multifunctional protein and its role in cancer invasion and metastasis [J]. *Front Biosci (Scholar edition)*,2011,3:621-631.
- [21] Parr C,Jiang WG. Metastasis suppressor 1 (MTSS1) demonstrates prognostic value and anti-metastatic properties in breast cancer[J]. *Eur J Cancer*,2009,45(9):1673-1683.
- [22] Deng J,Liang H,Ying G,et al. Methylation of CpG sites in RNF180 DNA promoter prediction poor survival of gastric cancer[J]. *Oncotarget*,2014,5(10):3173-3183.
- [23] Udali S,Guarini P,Ruzzenente A,et al. DNA methylation and gene expression profiles show novel regulatory pathways in hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Epigenetics*,2015,7(1):43.
- [24] Xie X,Deng J,Hou Y,et al. Evaluating the clinical feasibility:the direct bisulfite genomic sequencing for examination of methylated status of E3 ubiquitin ligase RNF180 DNA promoter to predict the survival of gastric cancer[J]. *Cancer Biomark*,2015,15(3):259-265.
- [25] Zhang X,Zhang X,Sun B,et al. Detection of aberrant promoter methylation of RNF180,DAPK1 and SFRP2 in plasma DNA of patients with gastric cancer[J]. *Oncol Lett*,2014,8(4):1745-1750.