

WISP-1/NGX6 和 G3BP/TIP30 基因表达对肿瘤细胞增殖转移的影响

The Effect of WISP-1 / NGX6 and G3BP/TIP30 Gene Expression on Tumor Cell Proliferation and Metastasis // QIN Jie, CHEN Jin, HUANG Shou-guo

秦杰, 陈瑾 综述, 黄守国 审校

(中南大学湘雅医学院附属海口医院, 海南 海口 570208)

摘要: 肿瘤的恶变过程包括细胞增生、DNA 过度复制、细胞周期功能紊乱、细胞永生、逃逸凋亡、血管增生及转移浸润等一系列过程。相应的分子机制为癌基因的激活、抑癌基因的失活、修复相关基因的功能缺失、凋亡机制缺失、信号转导调控机制紊乱及浸润转移相关分子事件等, 而在肿瘤恶变的一系列分子机制中, 细胞增殖凋亡、侵袭转移日益被重视。现全文就 WISP-1/NGX6、G3BP/TIP30 两组基因表达对肿瘤细胞增殖转移的影响作一综述。

关键词: 肿瘤; 细胞增殖; 侵袭转移; 基因表达; WISP-1/NGX6; G3BP/TIP30

中图分类号: R730.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)04-0294-05

肿瘤的恶变过程包括细胞增生、DNA 过度复制、细胞周期功能紊乱、细胞永生、逃逸凋亡、血管增生及转移浸润等一系列过程。相应的分子机制主要有癌基因的激活、抑癌基因的失活等^[1]。癌基因的激活与抑癌基因的失活, 使细胞生长与分化的调节失控, 导致细胞持续分裂和癌变。当抑癌基因失活后, 可能使癌基因充分发挥它的作用而导致癌的发生和发展^[2]。恶性肿瘤的侵袭和转移是衡量其恶性程度的主要因素, 是导致肿瘤患者死亡的主要原因之一。它是一个由多基因控制、受多因素影响、多阶段多步骤的复杂过程, 涉及肿瘤细胞异常的增殖、黏附、迁移, 细胞外基质降解, 血管生成等一系列病理生理活动^[3-5]。大量的试验数据表明肿瘤的发生和转移与多种肿瘤相关基因的表达失调相关, 特别是一些控制细胞增殖转移基因的表达失调。WISP-1/NGX6 和 G3BP/TIP30 作为肿瘤相关基因, 其结构功能的改变, 在一定程度上影响恶性肿瘤的发生及发展。为寻求恶性肿瘤的早期诊断与监测指标, 在基因水平揭示肿瘤增殖转移的本质, 本文对 WISP-1/NGX6 和 G3BP/TIP30 两组基因进行分析阐述。

基金项目: 海南省自然科学基金(2011-SZR-01-093)

通讯作者: 黄守国, 科主任, 主任医师, 博士后; 中南大学湘雅医学院附属海口医院妇产科, 海南省海口市海甸岛人民大道 43 号(570208); E-mail: shouguohuang@126.com。

收稿日期: 2011-10-14; **修回日期:** 2011-12-22

1 WISP-1/NGX6 基因

1.1 原癌基因 WISP-1 的结构和功能

20 世纪 90 年代, Hashimoto 等^[6]在对大鼠高转移性和低转移性黑色素细胞突变体进行 RNA 差异筛选时首次发现了一种新的基因表达在低转移性的细胞中, 即 WISP-1。WISP-1 基因定位于人染色体 8q24.1~8q24.3^[7], 其转录的原始 mRNA 有 5 个外显子, 经剪切加工成两种转录变体, 是一种富含半胱氨酸长度为 367 个氨基酸的分泌性蛋白多肽。WISP-1 属于连接组织生长因子 CCN 家族, 该家族包括 CTGF、NOV、CYR61、WISP-1、WISP-2 和 WISP-3, 所有家族成员在氨基酸序列上有高度同源性。该家族可编码多种外基质蛋白, 参与细胞增殖分化与凋亡的调控, 促进骨骼、神经、血管的发育。WISP-1 的表达不具有组织特异性, 但是各组织的表达水平悬殊。采用 PCR 测定人多种组织样本中 WISP-1 的表达, 发现 WISP-1 存在于多种组织器官, 如成人心脏、肾脏、肺、胰腺、胎盘、卵巢、小肠、脾; 而在脑、肝脏、骨骼肌、结肠、外周血白细胞、前列腺、睾丸和胸腺中 WISP-1 低表达或不表达^[8]。WISP-1 的生物学功能包括促进细胞增殖、介导细胞黏附、促进细胞外基质、刺激细胞转移等, 同时也调节较复杂的生物学过程,

参与血管形成和肿瘤形成^[9]。

1.2 原癌基因 *WISP-1* 与肿瘤的关系

WISP-1 是受 Wnt-1- β -catenin 信号系统调节的癌基因。Wnt 家族是重要的细胞信号分子,在细胞的增殖、分化及肿瘤的发生中发挥重要作用。Wnt 通路是一条对控制发育起重要作用的信号途径,在进化上具有高度保守性,从低等生物果蝇到高等哺乳动物,其成员都具有高度的同源性。信号传导过程发生异常或障碍,会导致细胞生长、分化、代谢及生物学异常,从而引起各种疾病甚至肿瘤。近年来发现,Wnt 信号传导紊乱与多种人类肿瘤有密切关系。大量数据证实肿瘤的发生与典型 Wnt 途径产生的稳定的 β -catenin 有关^[10]。Wnt 异常信号途径激活癌症的重要机制是启动子区域的甲基化。正常成熟的细胞中没有 Wnt 信号,若导入异常外源 Wnt 信号或突变的 β -catenin 基因,可提高细胞的转录活性,致使正常细胞癌变。总之,Wnt 途径中各成员(*WISP-1* 等)发生了突变或异常,均可导致该途径的失活或异常活跃,使得细胞或机体发生异常反应,或者诱导与恶性肿瘤相关的重要靶基因转录,从而最终影响了细胞的寿命及活动^[11]。

WISP-1 是 Wnt-1- β -连环蛋白信号通路的下游靶基因,尽管 Wnt 信号通路近年来研究的较多,但是 Wnt-1 信号调节缺陷导致肿瘤发生的机制仍不清楚。 β -连环蛋白是 Wnt 信号通路的关键成分,它可以与 Wnt 信号通路的其他成分相结合。它在胞质和细胞核中的水平发生变化,可影响某些基因的表达。而该通路的结肠腺瘤性息肉蛋白基因与人类肿瘤有密切关系;结肠腺瘤性息肉蛋白的失活性突变可导致 β -连环蛋白稳定性异常增加并且在细胞中积聚。在胞质中突变的 β -连环蛋白将与 DNA 结合因子相互作用,进而激活下游基因,引起一系列的改变,促进肿瘤形成。这就是 Wnt-1/结肠腺瘤性息肉蛋白/ β -连环蛋白信号通路,*WISP-1* 是该通路的下游分子,并且与肿瘤的形成有关^[12,13]。但是 Wnt-1- β -连环蛋白通过怎样的机制调节 *WISP-1* 的转录,*WISP-1* 又是怎样促进肿瘤的形成?目前的研究还缺乏直接有力的证据来说明这些疑问。对于 *WISP-1* 这一新基因,现阶段的了解还不够,对于它生理功能的研究才刚起步,还需大量的研究工作来进一步揭开 *WISP-1* 的神秘面纱。

1.3 抑癌基因 *NGX6* 的结构和功能

NGX6 基因是中南大学肿瘤研究所分子遗传室采用定位候选克隆策略,克隆出的一个鼻咽癌候选抑癌基因(基因登录号:AF188239),定位于染色体 9p21~22 区。9p21~22 区域的等位基因杂合性丢失现象是人类多种肿瘤中的共同事件,提示 *NGX6* 可能为肿瘤相关基因^[14]。生物信息学分析该基因 cDNA 全长 2.1kb,编码一个含 338 个氨基酸的跨膜蛋白,具有两个跨膜结构(234~256,269~291),胞外区含有一个 EGF 结构域(185~221),3 个 N-糖基化位点(92~95,100~103,172~175)。胞内区较短,含有一个酪氨酸激酶磷酸化位点(257~268),提示 *NGX6* 基因可能编码一种跨膜蛋白,通过其 EGF-结构域、酪氨酸激酶磷酸化位点、N-糖基化位点等功能域调控着细胞的增殖、黏附和运动等生物学过程^[15]。

1.4 抑癌基因 *NGX6* 与肿瘤的关系

NGX6 基因自发现后即受到关注,对其的研究范围已从鼻咽癌扩展到消化道肿瘤等多种其他肿瘤。有实验已经证实 *NGX6* 基因在结肠癌,尤其是有远处转移的结肠癌中表达明显下降甚至缺失^[16]。Liu 等^[17]研究了 *NGX6* 与结肠癌 Wnt 信号转导通路连接蛋白 β /T 细胞因子/淋巴样增强因子(β -catenin/T cell factor/lymphoid enhancer factor, β -catenin/TCF/LEF) 转录活化之间的关系,发现 *NGX6* 能够明显抑制 β -catenin 介导的 TCF/LEF 转录活化,并能降低细胞核内连接蛋白 β 及 TCF24 的表达。该结果初步证实 *NGX6* 可对 Wnt/ β -catenin 信号通路进行负调控,并推测 *NGX6* 的作用靶点可能就是 β 连接蛋白。

原癌基因 *WISP-1* 和抑癌基因 *NGX6* 引起或抑制肿瘤发生的作用机制尚不明确,但均与 Wnt 信号转导通路具有一定联系,即 *WISP-1* 是该信号通路的下游靶基因,而 *NGX6* 基因作为一个抑癌基因可能作用于通路的中上游分子。因此,研究 *WISP-1* 与 *NGX6* 的相关性对于肿瘤的预防和治疗具有相当重要的作用。

2 *G3BP/TIP30* 基因

2.1 肿瘤转移基因 *G3BP* 的结构和功能

G3BP(Ras-GTPase-activating protein SH3 domain binding protein) 是一个在真核生物进化过程中高度

保守的 RasGAP(Ras-GTPase-activating protein)结合蛋白。它的分子质量为 68 kD,由一个 3.3 kb mRNA 编码,主要定位于细胞质中。由于 G3BP 在结构上与 hnRNP(heterogeneous nuclear ribonucleoproteins)具有同源性,它也属于 RNA 结合蛋白家族^[18]。在哺乳动物细胞中至少有 3 种 G3BP:G3BP1、G3BP2a 和 G3BP2b,它们由两个不同的基因编码,分别位于人类的 5、4 号染色体和鼠的 11、5 号染色体上。人类 G3BP1 和 G3BP2 分别由两个不同的基因编码,分别定位于人类 5 号和 4 号染色体,其核苷酸序列具有 61%的同源性,基因表达产物氨基酸序列具有 59%的相似性。G3BP2 至少有两个亚类:G3BP2a 和 G3BP2b,其中后者比前者少 33 个氨基酸,这可能导致 G3BP 各个亚类参与部分不同的信号途径^[19-20]。已有许多证据表明,G3BP 参与多种细胞信号途径和 RNA 的代谢。研究证明 G3BP 具有多种生物学特性,能够促进细胞生长、增殖和存活,因此 G3BP 可能是影响肿瘤形成并促进其远处转移的一个重要原因。

2.2 肿瘤转移基因 G3BP 与肿瘤的关系

早期研究发现,G3BP 在多种肿瘤组织和细胞中过量表达,包括头颈部癌、肺癌、前列腺癌、结肠癌和乳腺癌等,提示 G3BP 有可能是一种肿瘤标志物,并且可能与肿瘤的发生发展有关。G3BP 在肿瘤发生、发展过程中的作用及机制还不是很清楚,可能与多种因素及信号通路有关。Barnes 等^[21]发现 G3BP1 参与 HER2 信号传导通路,在 HER2 高表达的多种乳腺癌细胞系中 G3BP1 过表达。Heregulin β 1 处理乳腺癌细胞后 G3BP 表达量上调,同时促进了 G3BP 的磷酸化以及与 RasGAP 的结合。G3BP2 的表达具有组织特异性,French 等^[22]检测了 56 种乳腺癌组织,其中有 88%的 G3BP2 高表达,但是在周围正常组织中 G3BP2 的表达却是不显著的。此外还发现 G3BP2 的高表达在原位癌形成的早期就出现了,提示 G3BP 可能参与了肿瘤的形成和发展,而不仅仅是肿瘤形成后导致的一个结果。众所周知,Ras 信号转导途径已被证实存在于细胞增殖、分化、细胞骨架构建、恶性转化、肿瘤侵袭和转移等多种生物学过程中起作用。RasGAP 既是 Ras 活性的调节因子,又是 Ras 的效应分子。作为首个被鉴定出的在增殖细胞中与 RasGAP SH3 结构域结合的特异性分子,G3BP 参与了肿瘤细胞的增殖和转移。G3BP 蛋白在不同

发生部位、不同进展期的多种恶性肿瘤组织中都有表达,提示 G3BP 蛋白可能参与了肿瘤发生、发展、侵袭和转移的过程。

2.3 肿瘤转移抑制基因 TIP30 的结构和功能

TIP30 (tatinteracting protein 30), 又称 CC3, TIP30/CC3 基因定位于人体第 11 号染色体上(11p15.1),是一种新发现的肿瘤转移抑制基因,最早是通过 RNA 差异显示技术比较高转移性小细胞肺癌(v-SCLC)和低转移性小细胞肺癌(V-SCLC)mRNA 时发现的^[23]。TIP30 特异性作用于 Tat 蛋白活化区域,在 Tat 蛋白活化状态下可增高 NA 聚合酶 II 亚单位 C 末端区域内七肽磷酸化,与 Tat 蛋白、RNA 聚合酶 II 共同作用刺激 HIV-1 活化 Tat 蛋白的转录特异性 HIV-1 增殖调节蛋白 Tat 的转录,并命名为 TIP30,序列分析发现其与 CC3 为同一蛋白^[24]。

2.4 肿瘤转移抑制基因 TIP30 与肿瘤的关系

TIP30 作为一种新发现的肿瘤转移抑制基因在多种正常组织中表达,在黑色素瘤、成神经细胞瘤、恶性胶质细胞瘤、乳腺癌、结肠癌和肝细胞癌等多种肿瘤中表达下调。TIP30 基因抑制肿瘤生长和转移的作用是通过调节与细胞增殖、凋亡及血管生成相关基因而实现的,且这些作用相互交错。细胞周期分析结果显示^[25],TIP30 对 G₀~G₁ 期细胞有阻断作用,从而使 S 期细胞比例下降,达到抑制肿瘤细胞增殖的作用。TIP30 还具有对细胞增殖进行负调节作用,TIP30 是 c-myc 基因抑制剂,通过抑制 c-myc 等其他分子蛋白,对细胞生长进行负调节作用,异位表达 TIP30 可特异性地阻抑 c-myc 基因雌激素受体(ER)调节的转录活性,研究表明,在 TIP30 缺陷的乳腺癌 MCY-7 细胞中加入雌激素刺激可使 c-myc 过表达从而促进细胞增殖。TIP30 基因抑制肿瘤细胞的浸润和转移是通过抑制血管内皮生长因子(VEGF)的转录和表达来实现的。利用 TIP30 基因对肿瘤血管生成的抑制作用,抑制增殖活跃的肿瘤细胞的供血,使其缺血、缺氧,从而抑制其生长和转移^[26]。最近研究表明,在肝癌细胞中,TIP30 可以与 ETS1 蛋白的 N 端 PNT 区结合而抑制 ETS1 蛋白和 AP-1 协同的对 OPN 启动子区 nt-266~nt-211 的转录激活作用,下调 OPN 的表达而抑制肝癌细胞的转移。

肿瘤转移相关基因的发现及其相关的研究已经为肿瘤的转移机制提供了新的讯息,然而一些肿瘤

转移相关基因的确切生化特性和具体生理功能尚未完全明了,许多肿瘤转移相关基因与其他转移相关因子、酶类和蛋白质等的相互作用还有待研究。随着研究的深入,肿瘤转移相关基因将为恶性肿瘤的诊断和治疗提供新的线索。

3 展 望

恶性肿瘤的发生、发展和转移是一个多因素、多步骤和多基因参与的复杂过程,期间基因突变、原癌基因激活、抑癌基因失活及其导致一系列信号转导的异常等分子病理学改变贯穿了癌变的全过程。筛选出高灵敏性、高特异性的肿瘤标志物,从分子水平辅助肿瘤的早期诊断,监测肿瘤的发生发展及预后,进行靶向性肿瘤生物治疗,具有重要的临床应用价值。目前,有关肿瘤转移的研究在克隆性形成的早期证实、转移性细胞可追踪靶点的发现等方面取得了长足进步,这些进展在很大程度上得益于造模方法的改进、技术的精准和临床证据的加强。就临床而言,实现转移的早期预警监测,确定已有靶点在转移中作用的具体阶段,加强靶向药物的敏感性和特异性、确定最佳剂量,将有助于对高转移倾向的患者实施更有效的干预,同时避免对无转移倾向的患者过度治疗。目前,通过单一的治疗措施难以达到抗肿瘤目的,联合手术、放化疗和抗转移药物来延缓或阻断肿瘤的转移复发可能是今后研究的方向。

参考文献:

[1] 王杰军,应明真.恶性肿瘤的转移机制与治疗策略[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2008,15(4):306-310.
 [2] Kopfstein L,Christofori G.Metastasis:cell autonomous mechanisms versus contributions by the tumor microenvironment[J].Cell Mol Life Sci,2006,63(4):449-468.
 [3] Gupta GP,Massague J.Cancer metastasis:building a framework[J].Cell,2006,127(4):1679-1695.
 [4] Boedeleld WM,Bland KI,Heslin MJ.Recent insights into angiogenesis,apoptosis,invasion and metastasis in colorectal carcinoma[J].Ann Surg Oncol,2003,10(8):839-851.
 [5] Yavin S,Aroyo A,Roth Z,et al. Embryo cryopreservation in the presence of low concentration of vitrification solution with sealed pulled straws in liquid nitrogen slush[J].Hum Reprod,2009,24(4):797-804.
 [6] Hashimoto Y,Shindo-Okada N,Tani M,et al. Identification of genes differentially expressed in association with metastatic potential of K-1735 murine melanoma by messenger RNA differential display [J]. Cancer Res,1996,56(22):5266-5271.
 [7] Su F,Overholtzer M,Besser D,et al. WISP-1 attenuates

p53-mediated apoptosis in response to DNA damage through activation of the Akt kinase [J]. Genes Dev, 2002,16(1):46-57.
 [8] Li N,Wang Q,Chen P,et al. Study on expression of CTGF and WISP-1 genes in human lung cancers [J]. J Hyg Res, 2008,37(5): 555-557.
 [9] Tang Q,Jing X,Li H,et al. Expression and prognostic value of WISP-1 in patients with endometrial endometrioid adenocarcinoma [J].J Obstet Gynaecol Res,2011,37(6): 606-612.
 [10] 张扬清,宋铭晶,邸冉,等.Wnt及其拮抗剂在肿瘤发生中的作用[J].中国比较医学杂志,2006,16(1):58.
 [11] Liu XD,Wan YH. Wnt signal transduction and neoplasms [J]. Oncol Prog,2009,7(3):296-300.
 [12] 田超,周总光.结肠癌发病机制研究的新位点 WISP-1[J]. 华西医学,2007,22(1):181-182.
 [13] Desnoyers L,Arnott D,Pennica D.WISP-1 binds to decorin and biglycan [J]. J Biol Chem,2001,276(50): 4759-4760.
 [14] Martignetti JA,Gelb BD,Pierce H,et al. Malignant fibrous histiocytoma: inherited and sporadic forms have loss of heterozygosity at chromosome bands 9p21-22-evidence for a common genetic defect genes chromosomes [J]. Cancer, 2000,27(2):191-195.
 [15] 刘芬,沈守荣.NGX6基因在Wnt/beta-catenin信号通路中的作用机制研究[J].中南大学学报,2008,12.
 [16] 张晓梅,沈守荣,王晓艳,等.胃癌和大肠癌中肿瘤相关基因NGX6的表达[J].世界华人消化杂志,2002,10(8): 873-876.
 [17] Liu F,Shen SR,Li HT,et al. Effects of NGX6 on the transcriptional activation of beta-catenin/TCF/LEF in Wnt/beta-catenin signal pathway [J]. J Cent South Unive (Med Sci),2007,32(6):985-991.
 [18] Cui W,Wei Z,Chen Q,et al. Structure-based design of peptides against G3BP with cytotoxicity on tumor cells[J].J Chem Inf Model,2010,50(3):380-387.
 [19] French J,Stirling R,Walsh M,et al. The expression of Ras-GTPase activating protein SH3 domain-binding proteins,G3BPs,in human breast cancers [J]. Histochem J, 2002,34(5):223-231.
 [20] Cristea IM,Rozjabek H,Molloy KR,et al. Host factors associated with the Sindbis virus RNA-dependent RNA polymerase: role for G3BP1 and G3BP2 in virus replication[J]. J Virol,2010,84(13):6720-6732.
 [21] Barnes CJ,Li F,Mandal M,et al.Heregulin induces expression,ATPase activity,and nuclear localization of G3BP,a Ras signaling component,in human breast tumors [J].Cancer Res,2002,62(5):1251-1255.
 [22] French J,Stirling R,Walsh M,et al.The expression of Ras-GTPase activating protein SH3 domain-binding proteins,G3BPs,in human breast cancers[J].Histochem J,2002,34(5):223-231.
 [23] 张霞,欧阳学农,李晓冬,等.抑癌基因TIP30/CC3对肿瘤细胞生长的影响[J].中华肝脏病杂志,2005,13(1):38-41.
 [24] Baker ME,Yan L,Pear MR. Three-dimensional model of human TIP30,a coactivator for HIV-1 Tat-activated transcription,and CC3,a protein associated with metastasis suppression[J]. Cell Mol Life Sci,2000,57(5):851-858.
 [25] 张霞,陈樟树,欧阳学农.人肝癌组织及肝癌细胞系中TIP30基因与VEGF的关系[J].中国肿瘤临床,2005,32: 489-492.
 [26] Jiang ZM,Lu CT. Attenuated salmonella mediated fusion genes inhibit tumor angiogenesis in BALB/c mice with human salivary adenoid cystic carcinoma[J]. Acad J Sec Mil Med Univ,2005,26(2): 609-612.