

神经母细胞瘤相关基因 *DDX1* 研究进展

石金, 鲁洁, 金雅琼, 初平, 韩书婧, 郭永丽, 王焕民, 倪鑫

(首都医科大学附属北京儿童医院, 北京市儿科研究所, 儿科学国家重点学科, 儿童耳鼻喉头颈外科疾病北京市重点实验室, 北京 100045)

摘要:神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是儿童常见恶性肿瘤之一。*MYCN* 基因扩增与 NB 不良预后密切相关, 但 *MYCN* 基因作为 NB 临床诊断重要分子标志物存在一定局限性。研究表明, 与 *MYCN* 基因邻近的 *DEAD box 1* 基因(*DDX1*) 在 NB 中存在与 *MYCN* 共扩增现象。*DDX1* 蛋白是 *DEAD box* 家族中一员, 目前研究显示其可能是一种依赖 ATP 的 RNA 解螺旋酶, 与肿瘤发生发展关系密切, 但 *DDX1* 基因对 NB 的作用尚不清楚, 且 *DDX1* 与 *MYCN* 基因共扩增对 NB 患者预后影响也存在分歧。文章根据目前 *DDX1* 基因与 NB 研究进展, 对 *DDX1* 与 NB 关系进行综述。

关键词: *DDX1*; 神经母细胞瘤; *MYCN*

中图分类号: R739.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2016)05-0417-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2016.05.B016

Research Progress on the *DDX1* Gene Related to Neuroblastoma

SHI Jin, LU Jie, JIN Ya-qiong, et al.

(Beijing Key Laboratory for Pediatric Diseases of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Beijing Pediatric Research Institute, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China)

Abstract: Neuroblastoma(NB) is one of the common malignant tumor of children. *MYCN* gene amplification is strongly correlated with poor prognosis of NB. But there are still some limitations that *MYCN* is regarded as an important clinical molecular markers for NB diagnosis. *DEAD box 1* (*DDX1*), a gene nearby *MYCN*, has recently been reported to be preferentially amplified in NB with *MYCN* amplification. *DDX1* protein belongs to *DEAD box* protein family, putative ATP-dependent RNA helicases. However, the role of amplification of *DDX1* in NB is unclear, and the effect of co-amplification of *DDX1* with *MYCN* on the prognosis of patients with NB also exists great distinctions. According to the current researches on *DDX1* and NB, the relationship between *DDX1* and NB was reviewed.

Subject: *DDX1*; neuroblastoma; *MYCN*

神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是一种常见儿童恶性肿瘤, 主要来源于神经外胚层, 约占儿科肿瘤死亡总数的 15%^[1]。与成人恶性肿瘤发病原因不同, 基因遗传变异在儿童恶性肿瘤发病原因中占据重要地位。因其恶性程度高、病程进展迅速、临床表现多样, 仅通过现有临床症状和辅助检查手段很难早期明确诊断^[2]。因此, 研究 NB 发生发展的分子生物学特点, 对提高 NB 患儿早期确诊率和预后效果

及推动 NB 肿瘤基因筛查有重要临床意义。

目前 NB 病因不清, 研究发现具有家系遗传突变的 NB 仅占 1%, 绝大多数则属于体细胞变异的散发性 NB^[1]。*MYCN* 基因扩增广泛存在于 NB 中, 研究发现大约 20% 的 NB 患者存在 *MYCN* 的扩增, 且它与 NB 肿瘤恶性程度、进展速度和不良预后密切相关^[3]。临床上, 检测 NB 患者 *MYCN* 扩增情况已经成为 NB 诊断治疗和判断预后的重要手段, 但仅以 *MYCN* 作为 NB 临床诊断中重要分子标志物存在一定局限性。而一些 *MYCN* 扩增 NB 患者生存率相对较高, 可能有 1 个或多个基因共同作用于 NB, 影响其发生发展以及预后^[4,5]。随着研究不断深入, 陆续

基金项目: 国家自然科学基金(81472369, 31401067)

通讯作者: 倪鑫, 主任医师, 教授, 博士生导师, 博士; 首都医科大学附属北京儿童医院耳鼻咽喉头颈外科, 北京市西城区南礼士路 56 号(100045); E-mail: nixin@bch.com.cn

收稿日期: 2015-06-25; **修回日期:** 2015-09-28

发现 NB 肿瘤组织细胞染色体 2p25-p24 上 1 个或者多个基因可与 *MYCN* 基因共扩增, 且其扩增程度与距 *MYCN* 基因碱基长度直接相关, 其中 *DEAD box1(DDX1)* 定位于染色体 2p24.3, 距离 *MYCN* 基因的远端着丝粒仅 340kb, 与 *MYCN* 显著共扩增^[6]。近年来, 国内外学者开展了许多 *DDX1* 对 NB 影响及分子机制研究。

1 DDX1

1.1 DEAD box 家族

DEAD box 家族及相关 DExD/H 蛋白属于第 2 大核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA) 解螺旋酶超家族, 几乎参与 RNA 合成到降解全过程^[7]。DEAD box 家族广泛存在于各种生物体内, 小到原核生物, 大到多细胞真核生物。目前已在人体中检测到 43 种 DEAD box 蛋白, 均具有独特的生物功能, 不能被其他蛋白所取代^[8]。DEAD box 蛋白都包含 9 个保守功能区且具体明确分工 (Figure 1), 是 DEAD box 蛋白发挥 ATP 结合水解及 RNA 结合与解旋作用的核心区域^[8]。其中最具代表性的 II 区存在特定氨基酸序列——D(asp)-E(glu)-A(ala)-D(asp), 可以与 ATP 酶结合, 参与 ATP 结合、水解及 RNA 解螺旋。尽管所有 DEAD box 家族的核心区域高度相似, 但是它们都保有各自独特的生物功能, 不能相互替代^[7]。

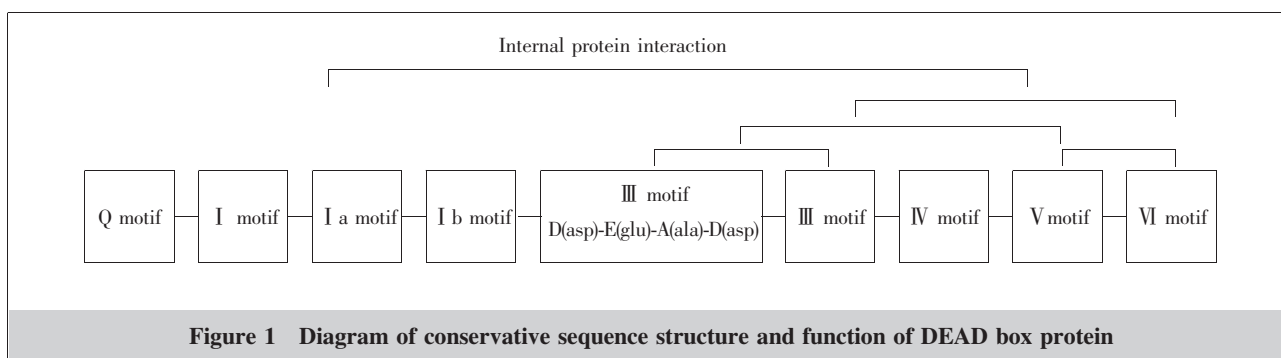
虽然目前对该家族的研究正在不断的深入, 但是这些蛋白质确切功能仍未确定。DEAD box 蛋白可作为多功能 RNA 伴侣蛋白促进特殊 RNA 结构形成^[9]。某些真核细胞中 DEAD box 蛋白在调节信使核糖核蛋白 (messenger ribonucleoprotein, mRNP) 表达中起到“关卡样”关键作用, 可能引起 RNA-蛋白复合物直接分离或使 RNA 与蛋白质之间稳定结构

改变。在核糖核蛋白 (ribonucleoprotein, RNP) 组装过程中, 只有组装 RNP 的中间产物结构正确, 特定的 DEAD box 蛋白才能被激活。因此, DEAD box 蛋白功能异常将影响基因的正常转录和翻译等过程, 导致一系列细胞功能异常^[10]。

1.2 DDX1 结构与功能

DDX1 基因位于染色体 2p24.3 上, 全长 39.491kb, 编码的 DDX1 蛋白是 DEAD box 家族中的一员, 全长 697 个氨基酸。DDX1 蛋白最先在视网膜母细胞 Y9 和 RB522A 中被发现, 其蛋白结构中同样包含 DEAD box 家族 9 个保守功能区, 此外 DDX1 蛋白还有一个特殊的 SPRY 区^[11], 普遍认为其主要参与信号传导中蛋白间以及蛋白和 RNA 间调控^[12-14]。DDX1 蛋白与其他家族成员关系并不密切, 氨基酸序列相似程度也很低, 它的具体功能尚不清楚。虽然如此, DDX1 蛋白却在所有组织和细胞中保持较低水平的表达, 并且在神经外胚层起源细胞及相关肿瘤细胞中表达增强, 提示其可能在神经外胚层起源细胞生长中起重要调节作用^[11]。鸡胚实验证实 DDX1 蛋白同 DEAD box 家族其他成员一样, 是一种依赖 ATP 的 RNA 解螺旋酶, 并可能参与 RNA 合成、加工、二级结构的形成以及降解过程^[15]。

最新研究表明 DDX1 蛋白对 microRNA (miRNA) 以及信使核糖核酸 (messenger RNA, mRNA) 的表达调控起重要作用。miRNA 是近年来发现的内源性非编码 RNA, 通过促进 mRNA 降解和/或抑制 mRNA 翻译来调节基因表达, 与个体发育、增殖、分化及肿瘤发生密切相关^[16-19]。Cecil Han 等^[20]在研究中发现 DDX1 蛋白可以与 DiGeorge 综合征危险区基因 8 (DiGeorge syndrome critical region 8, *Drosha/DGCR8*) 相互作用, 参与 miRNAs 初级转录本 (primary miRNAs, pri-miRNAs) 加工, 促进 miRNAs 的表



达,抑制卵巢癌细胞侵袭和远处转移。

DDX1 蛋白也可通过与 KH-型剪接调控蛋白 (KH-type splicing regulatory protein, KSRP) 结合,参与基因转录后水平调控^[21,22]。KSRP 是一种 RNA 结合蛋白,可在 mRNA 转录后水平甚至转录水平发挥作用,通过与腺苷酸-鸟苷酸富含元件(AU-rich element, ARE) 结合降低 mRNA 稳定性,介导 mRNA 快速降解^[23],其最早发现于剪切特定神经元的蛋白复合体中,可与非受体酪氨酸激酶内部增强子结合^[24]。在对人纤维肉瘤以及宫颈癌离体细胞培养中发现,DDX1 蛋白与 KSRP 在细胞质和细胞核中都存在相互作用。DDX1 蛋白可与 14-3-3 蛋白竞争结合 KSRP,DDX1 蛋白表达下降后细胞质中 KSRP 与 14-3-3 蛋白结合增加,抑制 mRNA 降解^[21]。同时 KSRP 还参与靶向 miRNA 成熟过程。虽然,目前对 DDX1 蛋白调节 SKRP 在细胞核与细胞质间穿梭机制尚不清楚,但不论 DDX1 蛋白与 KSRP 蛋白结合调控 mRNA 表达水平,还是调控 miRNAs 表达水平,均表明 DDX1 基因与个体发育、增殖、分化及肿瘤发生密切相关。

2 DDX1 与 NB

2.1 DDX1 与 MYCN 基因共扩增

在神经母细胞瘤研究中发现,DDX1 与 MYCN 基因均位于染色体 2p25-p24 上,且二者之间距离相对较近,DDX1 基因距离 MYCN 基因的远端着丝粒仅 340kb,与 MYCN 存在共同扩增现象,并且 DDX1 与 MYCN 基因共扩增现象普遍存在于常见肿瘤及细胞系中,包括视网膜母细胞瘤、成神经管细胞瘤、横纹肌肉瘤及神经母细胞瘤等^[6,25]。目前 MYCN 扩增已成为 NB 恶性程度高、进展速度快、预后不良的临床参考指标^[3],而 DDX1 基因可能与 MYCN 基因共同影响 NB 的预后效果。目前多项研究在 DDX1 基因与 NB 预后关系方面进行阐述,但结果不尽相同。

2.2 DDX1 基因对 NB 预后的影响

1995 年 Squire 等^[26]发现 DDX1 基因与 MYCN 共扩增现象不仅存在于成视网膜细胞瘤中,而且也普遍存在于 NB 中,MYCN 扩增的 3 个细胞系中有 2 个存在 DDX1 扩增,并且 DDX1 扩增不单独存在,其

拷贝数变化与 MYCN 扩增量大小呈正相关。通过对 32 个 NB 样本研究发现,共有 13 个 NB 存在 MYCN 扩增,其中一半伴随 DDX1 扩增。通过与非扩增组及单纯 MYCN 扩增组比较发现,DDX1 可增强肿瘤侵袭性,导致 NB 患儿生存率降低。但由于实验样本量太小,且 MYCN 扩增多集中在 IV 期,因此其他干扰因素对结果的影响仍未可知。同年 Chitra F 等^[6]通过对 15 个 NB 细胞系以及 122 个 NB 标本进行检测,同样证实 NB 肿瘤 70%MYCN 扩增细胞系中存在 DDX1 共扩增,DDX1 基因的高表达会加重 NB 肿瘤恶性程度。

然而,近年来也有研究发现 DDX1/MYCN 基因共扩增以及 DDX1 蛋白过表达在提升 NB 生存率方面可能产生积极作用。1 项研究发现 DDX1/MYCN 共扩增要比单纯 MYCN 扩增患儿肿瘤再次复发的平均时间长,DDX1/MYCN 共扩增 NB 患者的无病痛间隔时间是 MYCN 单纯扩增的 3 倍左右^[5]。2004 年 Weber 等^[4]对 98 例 MYCN 扩增 NB 患儿进行 6 年随访,其中 65.3% 患儿伴随 DDX1 扩增,MYCN/DDX1 共扩增患儿生存率多在 2 年以上,且在随后 4 年中伴有 DDX1 扩增患儿生存率是仅 MYCN 扩增患儿 2 倍以上。虽然这可能与样本中晚期患者居多且加强针对 MYCN 扩增治疗有关,但也从侧面说明 DDX1 基因高表达可能会提高患儿对化疗药物敏感性。同时,通过大量 DDX1 扩增病例统计学分析发现,DDX1 扩增与初诊年龄以及肿瘤分期无明显相关性,因此 DDX1 可能是辅助 MYCN 扩增分析临床预后因素的优选指标。另一项 113 例 MYCN 扩增 NB 患儿研究,DDX1 基因扩增伴 NAG 基因(neuroblastoma-amplified gene, NAG) 表达下降临床转归更好^[27]。以上研究结果显示,DDX1 基因扩增对 NB 临床结果的改善作用,可能是因为 DDX1 扩增导致肿瘤对治疗更加敏感,或 DDX1 基因及其他共扩增基因对 MYCN 基因产生某种抑制作用。2011 年,de Souza 等^[28]对 64 名巴西 NB 肿瘤患儿进行 MYCN、DDX1、TrkA 和 TrkC 基因表达水平对 NB 预后研究,但因 MYCN 扩增病例只有 20 例,其中仅 8 例伴有 DDX1 扩增,未能得出有意义结果。

2.3 与 DDX1 基因相关的机制研究

目前关于 DDX1 扩增影响 NB 发展及预后机制的研究甚少。仅在 1998 年 Godbout 等^[9]对 DDX1 基

因的扩增以及 DDX1 蛋白过表达在 NB 中的作用进行了初步研究, 在多个 NB 细胞系中应用 RACE 方法对 DDX1 反转录 cDNA 的碱基排序以及转录起始位点等进行了研究, 结果发现所有 NB 细胞系中 DDX1 拷贝数、转录水平与 DDX1 蛋白的表达呈正相关。与正常 DDX1 基因表达不同, 仅定位于细胞核中的 DDX1 基因扩增后, DDX1 蛋白同时存在于细胞核和细胞质中, 可见 DDX1 蛋白通过某种方式进入细胞质, 其异常表达在 NB 发生发展中发挥某种作用。

2.4 与 NB 相关的 DDX1 基因单核苷酸多态性

NB 患者中普遍存在种系变异。随着基因组学技术的发展及全基因组关联分析 (genome wide association study, GWAS) 研究的不断深入, 神经母细胞瘤的基因单核苷酸多态性 (nucleotide polymorphism, SNP) 已成为 NB 肿瘤种系突变中的研究热点^[29]。目前已有多个基因的 SNP 被证实与 NB 有关^[30-32]。但尚未发表过关于 DDX1 SNP 的报道, 有待进一步研究证实 DDX1 基因的 SNP 与 NB 的相关性。

综上所述, DDX1 与 MYCN 共扩增对于神经母细胞瘤的发生发展及预后影响仍存在争议, 其结论的不确定性主要受限于样本量不足、随访中不可控因素及未知分子间相互作用, 现阶段深入开展 DDX1 扩增对 NB 影响研究需开拓新的研究思路。

参考文献:

- [1] Maris JM, Hogarty MD, Bagatell R. Neuroblastoma [J]. Lancet (North American edition), 2007, 369: 2106.
- [2] Maris JM. Recent advances in neuroblastoma [J]. N Engl J Med, 2010, 362(23): 2202-2211.
- [3] Zhu S, Lee JS, Guo F, et al. Activated ALK Collaborates with MYCN in neuroblastoma pathogenesis [J]. Cancer Cell, 2012, 21(3): 362-373.
- [4] Weber A, Imisch P, Bergmann E, et al. Coamplification of DDX1 correlates with an improved survival probability in children with MYCN-amplified human neuroblastoma [J]. J Clin Oncol, 2004, 22(13): 2681-2690.
- [5] George RE, Kenyon RM, McGuckin AG, et al. Investigation of co-amplification of the candidate genes ornithine decarboxylase, ribonucleotide reductase, syndecan-1 and a DEAD box gene, DDX1, with N-myc in neuroblastoma. United Kingdom Children's Cancer Study Group [J]. Oncogene, 1996, 12(7): 1583-1587.
- [6] Manohar CF, Salwen HR, Brodeur GM, et al. Co-amplification and concomitant high levels of expression of a DEAD box gene with MYCN in human neuroblastoma [J]. Genes Chromosomes Cancer, 1995, 14(3): 196-203.
- [7] Rocak S, Linder P. DEAD-box proteins: the driving forces behind RNA metabolism [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2004, 5(3): 232-241.
- [8] Linder P. Dead-box proteins: a family affair-active and passive players in RNP-remodeling [J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34(15): 4168-4180.
- [9] Lorsch JR. RNA chaperones exist and DEAD box proteins get a life [J]. Cell, 2002, 109(7): 797-800.
- [10] Ma WK, Cloutier SC, Tran EJ. The DEAD-box protein Dbp2 functions with the RNA-binding protein Yra1 to promote mRNP assembly [J]. J Mol Biol, 2013, 425(20): 3824-3838.
- [11] Godbout R, Squire J. Amplification of a DEAD box protein gene in retinoblastoma cell lines [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90(16): 7578-7582.
- [12] Rhodes DA, de Bono B, Trowsdale J. Relationship between SPRY and B30.2 protein domains. Evolution of a component of immune defence? [J]. Immunology, 2005, 116(4): 411-417.
- [13] Gao B, Duan ZJ, Xu W, et al. The contribution of the C terminal SPRY domain of TRIM22 to its own transcription, translation, and subcellular localization [J]. Journal of Microbes and Infections, 2010, 1: 31-35. [高波, 段志坚, 徐薇, 等. 抗病毒固有免疫分子 TRIM22 C 端 SPRY 结构域对其转录、翻译及亚细胞定位的影响 [J]. 微生物与感染, 2010, 1: 31-35.]
- [14] Ponting C, Schultz J, Bork P. SPRY domains in ryanodine receptors (Ca²⁺-release channels) [J]. Trends Biochem Sci, 1997, 22(6): 193-194.
- [15] Godbout R, Packer M, Katyal S, et al. Cloning and expression analysis of the chicken DEAD box gene DDX1 [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1574(1): 63-71.
- [16] Xie B, Ding Q, Han H, et al. miRCancer: a microRNA-cancer association database constructed by text mining on literature [J]. Bioinformatics, 2013, 29(5): 638-644.
- [17] Pereira DM, Rodrigues PM, Borralho PM, et al. Delivering the promise of miRNA cancer therapeutics [J]. Drug Discov Today, 2013, 18(5-6): 282-289.
- [18] Davalos V, Esteller M. MicroRNAs and cancer epigenetics: a macroevolution [J]. Curr Opin Oncol, 2010, 22(1): 35-45.
- [19] Merritt WM, Lin YG, Han LY, et al. Dicer, Drosha, and

- outcomes in patients with ovarian cancer [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(25):2641–2650.
- [20] Han C, Liu Y, Wan G, et al. The RNA-binding protein DDX1 promotes primary microRNA maturation and inhibits ovarian tumor progression [J]. *Cell Rep*, 2014, 8(5): 1447–1460.
- [21] Chou C, Lin W, Lin C, et al. DEAD box protein DDX1 regulates cytoplasmic localization of KSRP [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9):e73752.
- [22] Trabucchi M, Briata P, Garcia-Mayoral M, et al. The RNA-binding protein KSRP promotes the biogenesis of a subset of microRNAs [J]. *Nature*, 2009, 459(7249):1010–1014.
- [23] Li XL, Lin WJ, Chen CY, et al. KSRP: a checkpoint for inflammatory cytokine production in astrocytes [J]. *Neural Injury and Functional Reconstruction*, 2012, 7 (6):436–442, 446. [Li Xue-Lin, Lin Wei-Jye, Chen Ching-Yi, 等. KH 型剪切调控蛋白: 星形胶质细胞炎性细胞因子生成检测点 [J]. *神经损伤与功能重建*, 2012, 7 (6):436–442, 446.]
- [24] Min H, Turck CW, Nikolic JM, et al. A new regulatory protein, KSRP, mediates exon inclusion through an intronic splicing enhancer [J]. *Genes Dev*, 1997, 11 (8):1023–1036.
- [25] Scott D, Elsdon J, Pearson A, et al. Genes co-amplified with MYCN in neuroblastoma: silent passengers or co-determinants of phenotype? [J]. *Cancer Lett*, 2003, 197(1–2): 81–86.
- [26] Squire JA, Thorner PS, Weitzman S, et al. Co-amplification of MYCN and a DEAD box gene (DDX1) in primary neuroblastoma [J]. *Oncogene*, 1995, 10(7):1417–1422.
- [27] Kaneko S, Ohira M, Nakamura Y, et al. Relationship of DDX1 and NAG gene amplification/overexpression to the prognosis of patients with MYCN-amplified neuroblastoma [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2007, 133(3):185–192.
- [28] de Souza DR, Sanabani SS, de Souza AC, et al. Prognostic impact of MYCN, DDX1, TrkA, and TrkC gene transcripts expression in neuroblastoma [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2011, 56(5):749–756.
- [29] Capasso MDS. Genetics and genomics of neuroblastoma [J]. *Cancer Treatment Res*, 2010, 155:65.
- [30] Capasso M, Devoto M, Hou C, et al. Common variations in BARD1 influence susceptibility to high-risk neuroblastoma [J]. *Nat Genetics*, 2009, 41(6):718–723.
- [31] Latorre V, Diskin SJ, Diamond MA, et al. Replication of neuroblastoma SNP association at the BARD1 locus in African-Americans [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2012, 21(4):658–663.
- [32] Wang K, Diskin SJ, Zhang H, et al. Integrative genomics identifies LMO1 as a neuroblastoma oncogene [J]. *Nature*, 2011, 469(7329):216–220.

郑重申明

本刊作者谨防商务网站虚假征稿

《肿瘤学杂志》官网网址为: <http://www.chinaoncology.cn> 请作者直接点击进入网页, 注册并登录采编系统进行投稿。如有疑问请致电 0571-88122280, 88122282, 13758247950, 13757142507 查询。本刊邮箱为 zlxzz04@126.com 不再接受邮件投稿, 所有稿件均通过采编系统管理, 作者可通过采编系统查阅稿件审理进展。通过百度、谷歌等搜索后出现的注有《肿瘤学杂志》字样的代理征稿等相关信息, 本刊均未同其签订过委托、授权或合作协议, 敬请作者谨防上当!