

乙型肝炎病毒X蛋白反式激活基因XTP4与肿瘤发生发展的关系

邓秀娟^{1,2}, 韩铭², 成军², 梁跃东¹ (1.贵州医科大学, 贵阳 550004; 2.首都医科大学附属北京地坛医院 研究所/新发突发传染病研究北京市重点实验室, 北京 100015)

摘要: 乙型肝炎病毒X蛋白反式激活基因XTP4是近年来发现的与肿瘤发生发展相关的新基因。众多研究显示XTP4基因表达异常与乳腺癌、前列腺癌、胃癌、结直肠癌、卵巢癌、非小细胞肺癌和肝细胞肝癌等肿瘤密切相关。XTP4基因在肿瘤过度增殖和转移侵袭、肿瘤分级与分期以及化疗耐药等过程中发挥作用。本文将对XTP4基因的结构、功能以及与肿瘤发生发展的关系进行综述, 以利于后期对其功能进行深入研究。

关键词: XTP4基因; 肿瘤细胞; 转移侵袭; 过度增殖

Relationship between hepatitis B virus X protein trans-activate gene XTP4 and the occurrence and development of neoplasms

DENG Xiu-juan¹, HAN Ming², CHENG Jun², LIANG Yue-dong¹ (1. Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. Institute of Infectious Diseases/Beijing Key Laboratory of Emerging Sudden Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: Hepatitis B virus X (HBx) protein trans-activate gene XTP4 is a new gene found in recent years, which is related to the development of tumor. Many studies showed that XTP4 gene is abnormally expressed in breast cancer, prostate cancer, gastric cancer, colorectal cancer, ovarian cancer, non-small cell lung cancer, hepatocellular carcinoma and other abnormal tumor. The abnormal expression of XTP4 gene is closely related to cell hyperplasia, metastasis, invasion, tumor grade, staging and chemotherapy resistance. In view of the XTP4 gene playing an important role in various types of tumors or different stages of tumors and in order to facilitate the latter part of its function in-depth study, this paper will clarify the relationship of XTP4 gene structure, function and tumor occurrence and development.

Key words: XTP4 gene; Neoplasms; Metastasis; Over-proliferation

肿瘤的发生和发展涉及细胞周期紊乱、细胞增殖凋亡失调、迁徙及侵袭等多种生物机制。其中肿瘤的增殖复发和侵袭转移是肿瘤预后差的主要原因, 也是导致患者死亡的重要原因^[1]。肿瘤是否复发以及发生远处转移均与肿瘤的增殖速率有关。肿瘤细胞从一个位置运动到另一个位置是一个复杂的过程, 涉及运动辅件的形成、基底膜降解、局部的侵袭以及远处转移多个步骤^[2]。近年来发现了许多肿瘤相关的基因, 丰富充实了肿瘤发生及发展的分子生物学机制。乙型肝炎病毒X蛋白反式激活基因XTP4就是在此环境下被筛选出来, 目前诸多研究显示其在乳腺癌、前列腺癌、胃癌、结直肠癌、非

小细胞肺癌、卵巢癌、脑癌和肝细胞肝癌等多种肿瘤组织中高表达^[3,4], 在肿瘤的增殖、侵袭转移以及复发中发挥重要作用。

1 XTP4 基因的概述

1.1 XTP4基因的发现 乙型肝炎病毒X蛋白 (hepatitis B virus X protein, HBx) 是一种具备反式激活作用的病毒蛋白质, 是HBV最短开放阅读框 (open reading frame, ORF) X基因编码的产物, 命名为X蛋白, 在HBV基因组的转录和翻译过程中起重要作用。其反式激活作用不仅针对HBV基因组中各种调节性基因序列, 对其他不同病毒启动子的活性以及某些宿主细胞 (如肝细胞) 重要基因的表达也有影响^[5,6]。HBxAg与肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的发生发展紧密相关, HBxAg自身并无致癌性, 其主要通过反式激活功能与诸多癌

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2017.03.004

基金项目: 北京市医管局“登峰”人才培养计划团队项目 (DFL20151701); 重点医学专业发展计划项目 (ZYLX201402)

通讯作者: 梁跃东 Email: lyd302@163.com

症相关蛋白交互作用,调节基因转录表达,影响病毒复制、宿主细胞信号转导、细胞增殖分化以及细胞凋亡等,从而促进肿瘤的进展。在相关细胞因子的参与下,HBxAg可反式激活原癌基因(c-myc、ras、c-jun和c-fos)以及抑制抑癌基因(p16、p21和p53等),从而影响肝细胞癌的进展^[7,8]。

由于HBxAg具有广泛的反式激活作用,进一步筛选HBxAg反式激活新型靶基因并明确相关分子生物学机制具有重要意义。XTP4基因最早由美国国立卫生研究院哺乳动物基因集合计划应用代表性差异分析技术于2002年发现,并命名为C17orf37/MGC14832,相关功能及机制尚不清楚。2004年刘妍等^[9]通过抑制性消减杂交分析技术筛选出HBXAg反式激活新型靶基因,命名为XTP4,GenBank收录号为AF490253,在GenBank中还有MIEN1、C35、ORB3和RDX12等别称。

1.2 XTP4基因的定位和结构 XTP4定位于人染色体17q12~17q21,位于HER2扩增子的最小扩增区域内,距离原癌基因ERBB2(曲妥单抗治疗靶点)的3'末端505个核苷酸,距离GRB7末端7402个核苷酸,介于HER2和GRB7之间,与ERBB2在染色体上呈尾对尾排列,沿着邻近基因ERBB2和GRB7扩增,其ORF编码分子量为12.4 kDa的蛋白质^[3,10],XTP4蛋白主要在细胞质内表达。

XTP4基因全长转录由776个核苷酸组成,包含4个外显子和3个内含子^[11,12],ORF长度为348个核苷酸,编码由116个氨基酸残基组成的分子量约为12.4 kDa的膜锚定蛋白^[4,13]。序列比对显示,XTP4蛋白在6种高等生物中的一致性>77%,同源性较高,在低等生物中则无同源序列。通过序列计算预测,XTP4蛋白序列的39位酪氨酸可能为酪蛋白激酶II的作用位点,76位丝氨酸可能为环化腺核苷一磷酸cAMP位点,97位丝氨酸可能为环鸟苷酸3'5'磷酸化位点。不同物种XTP4蛋白末端的“CVIL”是高度保守的,可能会在真核细胞内被异戊二烯化^[14]。XTP4基因的C-末端包含一个典型的免疫受体酪氨酸活化基序(immune receptor tyrosine activation motif, ITAM),通过激活下游依赖脾酪氨酸激酶的信号转导通路,与细胞转化产生联系。Rajendiran等发现XTP4启动子区域包含一个SINE Alu重复序列,转录起始点上游序列包含一个USF转录因子结合位点,SINE Alu部分序列低甲基化,与XTP4的表达以及癌症的发生发展相关^[15]。

2 XTP4与肿瘤

2.1 XTP4与乳腺癌 乳腺癌是我国最普遍的肿瘤,

在肿瘤相关死亡原因中占第2位,目前研究最多的与XTP4基因异常调节相关的疾病就是乳腺癌。Elizabeth等^[4]早期的研究发现,除睾丸间质细胞外,XTP4在人体38种正常组织中均未检测到,而在乳腺癌细胞中特异性高表达,表达量差异可达10倍以上,且在乳腺癌早期、晚期及远处转移时均有显著表达,因此XTP4或许可作为乳腺癌疾病预测以及预后估计的指标。巴再华等^[16]研究发现XTP4与乳腺癌的分级分期相关,并且随着乳腺癌组织的TNM分期病理组织学分级的增加,XTP4蛋白阳性率显著升高,两者呈正相关性。Yin等^[17]研究发现XTP4的表达和原癌基因人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)表达呈正相关,与雌激素受体(estrogen receptor, ER)和孕激素受体(progesterone receptor, PR)表达呈负相关,与临床淋巴结转移分期显著相关,与患者年龄、月经周期以及肿瘤直径均无相关性。Annexin A2(AnxA2)是钙依赖的磷脂结合蛋白,位于细胞外蛋白水解中心,调节纤溶酶生成,Kpetemey等^[18]研究发现XTP4作为Annexin A2(AnxA2)蛋白的一个新型相互作用蛋白,两者相互协作能促进乳腺癌细胞的转移。具体机制是XTP4能促使球状肌动蛋白丝转化为丝状肌动蛋白丝,并且稳定肌动蛋白丝,在维持膜相关性肌动蛋白细胞骨架活性的可塑性中担任重要角色,增加细胞移动性^[19]。靶向XTP4还可用于乳腺癌疾病的治疗,Liu等^[20]发现XTP4与乳腺癌的凋亡相关,在乳腺癌细胞系中下调XTP4表达后,细胞凋亡数增加,凋亡相关因子caspase3表达量增加,说明XTP4可能通过caspase3通路在细胞凋亡中发挥作用;XTP4和AnxA2的相互作用是乳腺癌转移的关键驱动子,靶向XTP4-AnxA2或许可作为抑制肿瘤转移的有效治疗靶。

2.2 XTP4与前列腺癌 与乳腺癌相似,XTP4在前列腺癌中表达水平增高,并对预后诊断具有预测价值。XTP4的表达水平和前列腺癌细胞的侵袭转移能力有关,XTP4表达水平高可促进前列腺癌转移,XTP4表达水平低则前列腺癌转移能力受抑制。Dasgupta等^[21]研究发现XTP4在前列腺癌细胞系和组织中高表达,细胞转移能力增加;Rajendiran等^[22]发现MicroRNA-Has-miR-940能够靶向下调XTP4,miR-940在正常组织中高表达,在前列腺肿瘤组织中几乎无表达,并抑制肿瘤细胞潜在的侵袭迁移力以及非依赖贴壁生长能力,提示miR-940可能在前列腺癌发生发展中发挥抑癌作用。

通过siRNA下调XTP4表达量后,可观察到PKB/AKT的磷酸化减少,NF- κ B以及下游靶基因基质金属蛋白酶MMP9、尿激酶纤溶酶原激活剂uPA以及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达受到抑制,证明XTP4充当信号分子,通过调控NF- κ B介导的下游基因增加前列腺癌细胞的侵袭迁移性。miRNA是调节基因表达的关键分子,通过下调XTP4发挥作用,增加上皮细胞标志基因E-cadherin的表达,在间质上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET)中扮演重要角色,更加说明XTP4在肿瘤预测中起作用,因此可以单独检测XTP4或联合检测miR-940作为前列腺癌新的诊断和预测工具。

XTP4在基因转录及翻译中发挥重要作用和其自身的修饰加工紧密相关。XTP4甲基化和肿瘤的发生发展密切相关,Rajendiran等^[15]发现XTP4启动子区域包含一个SINE Alu重复序列,转录起始点上游序列包含一个USF转录因子结合位点,正常细胞中XTP4启动子的SINE Alu区域高甲基化,XTP4基因表达受抑制,而在前列腺癌细胞中,XTP4启动子区域的SINE Alu部分序列低甲基化,XTP4过表达,促进前列腺癌的发生发展。前列腺癌的发生发展过程复杂,基因调控机制广泛,对XTP4作用的研究尚为表浅,进一步的研究对前列腺癌患者的治疗和预后判断具有重要意义。

2.3 XTP4与胃肠道肿瘤 在胃肠道肿瘤和正常细胞组织中XTP4的表达具有差异性。Maqani等^[23]通过qRT-PCR发现XTP4在上消化道腺癌中高表达;孙萍胡等^[24]通过检测人胃癌细胞株SGC7901、MKN28、AGS MKN45和31例胃癌患者癌组织及相应的癌旁组织发现,胃癌细胞株中XTP4 mRNA和XTP4蛋白表达水平显著高于正常胃上皮细胞,胃癌组织及癌旁组织XTP4蛋白表达的阳性率分别为87.1%和48.4%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。詹远京等^[25]采用siRNA下调XTP4表达后,观察到XTP4 mRNA及蛋白表达均显著下调,胃癌细胞生长能力和侵袭能力也显著降低;2015年Dong等^[26]研究发现XTP4在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)组织和细胞系中高表达,并与肿瘤浆膜侵袭、淋巴结转移以及Dukes分期相关,为胃肠道肿瘤患者的治疗提供了新的思路。

2.4 XTP4与呼吸道肿瘤 XTP4与呼吸道肿瘤的生存率及远处转移有关,XTP4还可被特定微小RNA调控从而影响肿瘤的发生发展。口腔癌及肺癌是高度恶性肿瘤,能原位浸润、远处转移并促进淋巴结转

移,主要潜在机制的研究尚不充分。有研究报道在口腔癌及非小细胞肺癌^[27]中观察到XTP4高表达,细胞侵袭迁移性增加,伪足形成增多,AKT/NF- κ B因子上调,与肿瘤TNM分期、淋巴结转移、细胞分化类型以及患者低生存率有关,表明XTP4在肿瘤扩散中起重要作用,是肿瘤侵袭转移的关键分子,可能与低表达的视黄酸受体3(RARRES3)存在相互作用,但具体调控机制尚未明确。Li等^[28]研究发现Mir-26b能靶向下调XTP4,从而抑制细胞转移,可能通过NF- κ B/MMP9/VEGF信号转导通路发挥作用。

2.5 XTP4与卵巢癌 XTP4在卵巢癌中高表达,可抑制肿瘤细胞凋亡,导致细胞耐药,参与卵巢癌的发生发展,影响预后,可能成为有效的治疗靶点。Leung等^[29]研究发现高表达的XTP4增加了卵巢癌细胞的增殖能力、迁移能力和致肿瘤性。XTP4作为 Δ Np73蛋白结合伴侣,两者相互协同促进卵巢癌进展,在顺铂耐药中发挥作用,共表达的XTP4- Δ Np73引起的顺铂化学耐药较单独过表达XTP4和 Δ Np73严重,原因可能为XTP4- Δ Np73使AKT/NF- κ B活性增加。

2.6 XTP4与肝细胞癌 除上述肿瘤外,XTP4作为一个HBX相关基因,其可能在肝细胞癌的发生发展中起着重要作用。目前在已有的肝细胞癌研究中,XTP4均高表达。时朝辉等^[30]通过真核表达质粒pcDNA3.1/myc-His(-)A-XTP4(pXTP4)及化学合成XTP4基因的siXTP4处理HepG2细胞,双向研究验证了XTP4具有抑制HepG2细胞凋亡的作用,其机制可能是通过增加Bcl-2/Bax的比值,p53蛋白可能也参与其中。

3 总结与展望

从XTP4发现至今,对其在肿瘤领域的研究已经取得了许多重要成果,尤其是在肿瘤的发生发展过程中。越来越多的研究显示,XTP4涉及肿瘤发生发展基因水平的调控,并与肿瘤相关的信号转导通路有关,提示XTP4是一个候选的癌基因,是肿瘤研究的一个重要靶点,已逐步证实其在诊治、预后判断以及药物靶向作用中的重要性。但目前的研究中病例数较少,对其机制的研究不够深入,XTP4可否作为肿瘤早期诊断、治疗疗效等的参考指标还需进一步验证,同时具体的机制仍未明确。

XTP4作为一个从乙型肝炎病毒X蛋白研究过程中筛选出来的反式激活基因,其功能与HBx的功能相关。但目前XTP4基因在肝细胞癌中的研究较少,主要集中在其他肿瘤中。HBx与肝细胞癌关系

密切,而XTP4本身则是肿瘤研究中的热点分子,这些都提示该基因在肝细胞癌中的重要作用。因此深入研究XTP4的转录水平、翻译后修饰的调控机制及其在疾病发生发展中的分子作用机制是当务之急,这将为该基因定位为一个临床预防、诊断和治疗的关键靶点奠定基础。

参考文献

- [1] 郝小军, 畅智慧, 赵相轩, 等. miRNA调控EMT影响结肠癌侵袭转移的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(1): 142-145.
- [2] Tsai JH, Yang J. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis[J]. Genes Dev, 2013, 27(20): 2192-2206.
- [3] Benusiglio PR, Pharoah PD, Smith PL, et al. HapMap-based study of the 17q21 ERBB2 amplicon in susceptibility to breast cancer[J]. Br J Cancer, 2006, 95(12): 1689-1695.
- [4] Evans EE, Henn AD, Jonason A, et al. C35 (C17orf37) is a novel tumor biomarker abundantly expressed in breast cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2006, 5(11): 2919-2930.
- [5] Murakami S. Hepatitis B virus X protein: structure, function and biology[J]. Intervirology, 1999, 42(2-3): 81-99.
- [6] Rossner MT. Review: hepatitis B virus X-gene product: a promiscuous transcriptional activator[J]. J Med Virol, 1992, 36(2): 101-117.
- [7] Kordestani R, Mirshafiee H, Hosseini SM, et al. Effect of hepatitis B virus X gene on the expression level of p53 gene using HepG2 cell line[J]. Avicenna J Med Biotechnol, 2014, 6(1): 3-9.
- [8] Feitelson MA, Lee J. Hepatitis B virus integration, fragile sites, and hepatocarcinogenesis[J]. Cancer Lett, 2007, 252(2): 157-170.
- [9] 刘妍, 成军, 王建军, 等. 乙型肝炎病毒X蛋白反式激活基因XTP4的克隆化研究[J]. 解放军医学杂志, 2004, 29(5): 380-382.
- [10] Staaf J, Jönsson G, Ringnér M, et al. High-resolution genomic and expression analyses of copy number alterations in HER2-amplified breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(3): R25.
- [11] Wheeler DL, Church DM, Federhen S, et al. Database resources of the National Center for Biotechnology[J]. Nucleic Acids Res, 2003, 31(1): 28-33.
- [12] Feitelson MA, Duan LX. Hepatitis B virus X antigen in the pathogenesis of chronic infections and the development of hepatocellular carcinoma[J]. Am J Pathol, 1997, 150(4): 1141-1157.
- [13] Kauraniemi P, Kallioniemi A. Activation of multiple cancer-associated genes at the ERBB2 amplicon in breast cancer[J]. Endocr Relat Cancer, 2006, 13(1): 39-49.
- [14] Tanaka S, Mori M, Akiyoshi T, et al. A novel variant of human Grb7 is associated with invasive esophageal carcinoma[J]. J Clin Invest, 1998, 102(4): 821-827.
- [15] Rajendiran S, Gibbs LD, Van Treuren T, et al. MIEN1 is tightly regulated by SINE Alu methylation in its promoter[J]. Oncotarget, 2016, 7(40): 65307-65319.
- [16] 巴再华, 朱嵩, 徐超, 等. C35蛋白在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 13(22): 202-203.
- [17] Yin K, Ba Z, Li C, et al. Overexpression of C35 in breast carcinomas is associated with tumor progression and lymphnode metastasis[J]. Biosci Trends, 2015, 9(6): 386-392.
- [18] Kpetemey M, Dasgupta S, Rajendiran S, et al. MIEN1, a novel interactor of Annexin A2, promotes tumor cell migration by enhancing AnxA2 cell surface expression[J]. Mol Cancer, 2015, 14: 156.
- [19] Kpetemey M, Chaudhary P, Van Treuren T, et al. MIEN1 drives breast tumor cell migration by regulating cytoskeletal-focal adhesion dynamics[J]. Oncotarget, 2016, 7(34): 54913-54924.
- [20] Liu QQ, Yin K, Zhu S, et al. Inhibition of C35 gene expression by small interfering RNA induces apoptosis of breast cancer cells[J]. Biosci Trends, 2010, 4(5): 254-259.
- [21] Dasgupta S, Wasson LM, Rauniyar N, et al. Novel gene C17orf37 in 17q12 amplicon promotes migration and invasion of prostate cancer cells[J]. Oncogene, 2009, 28(32): 2860-2872.
- [22] Rajendiran S, Parwani AV, Hare RJ, et al. MicroRNA-940 suppresses prostate cancer migration and invasion by regulating MIEN1[J]. Mol Cancer, 2014, 13: 250.
- [23] Maqani N, Belkhiri A, Moskaluk C, et al. Molecular dissection of 17q12 amplicon in upper gastrointestinal adenocarcinomas[J]. Mol Cancer Res, 2006, 4(7): 449-455.
- [24] 孙萍胡, 赵丹瑜, 董文杰, 等. C17orf37基因在胃癌中表达的研究[C]. 第二十四届全国中西医结合消化系统疾病学术会议专题报告及论文集, 2012.
- [25] 詹远京, 牛立志, 徐克成, 等. C35对胃癌细胞侵袭性的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(25): 8-11.
- [26] Dong X, Huang Y, Kong L, et al. C35 is overexpressed in colorectal cancer and is associated tumor invasion and metastasis[J]. Biosci Trends, 2015, 9(2): 117-121.
- [27] 王季颖, 蔡勇, 白冲. RARRES3和MIEN1蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2015, (11): 988-992.
- [28] Lid, Wei Y, Wang D, et al. MicroRNA-26b suppresses the metastasis of non-small cell lung cancer by targeting MIEN1 via NF- κ B/MMP-9/VEGF pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 472(3): 465-470.
- [29] Leung TH, Wong SC, Chan KK, et al. The interaction between C35 and Δ Np73 promotes chemo-resistance in ovarian cancer cells[J]. Br J Cancer, 2013, 109(4): 965-75.
- [30] 时朝辉, 张梦然, 王丽丽, 等. HBX蛋白反式激活基因XTP4抑制HepG2细胞凋亡[J]. 基础医学与临床, 2015, 35(12): 1591-1595.

收稿日期: 2017-04-17

邓秀娟, 韩铭, 成军, 等. 乙型肝炎病毒X蛋白反式激活基因XTP4与肿瘤发生发展的关系[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2017, 9(3): 18-21.