

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.04.048

Gankyrin 与消化系统肿瘤关系的研究进展

王菁 姜爱民[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院消化内科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 消化系统肿瘤与多种肿瘤相关基因的正常表达密切相关, Gankyrin 是一种癌基因, 于肝癌、结直肠癌、胰腺癌等消化系统肿瘤中高表达, 并通过依赖泛素的蛋白酶解系统介导多种转录因子、细胞周期调控蛋白以及抑癌蛋白如 p53、Rb 等的降解。研究表明, Gankyrin 在消化系统肿瘤形成及细胞的生长周期调控中发挥重要作用, 在消化系统肿瘤的早期诊断及判断预后方面具有一定的应用前景, 同时也可能成为消化系统肿瘤基因治疗的潜在靶点。

关键词: 消化道肿瘤; 癌基因; Gankyrin

中图分类号: R735 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)04-789-03

Research Progress of the Relationship between Gankyrin and Digestive System Neoplasms

WANG Jing, JIANG Ai-min[△]*(Department of Gastroenterology, the first affiliated hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)*

ABSTRACT: The digestive system neoplasms are associated with abnormal expression of multiple tumor related genes. Gankyrin is an oncogene, which has been found to have high expression in the digestive system neoplasms such as hepatocellular carcinoma, colorectal cancer, pancreatic cancer, etc. It mediates the degradation of a variety of transcription factors, cell cycle regulation proteins and tumor suppressor proteins including p53, Rb, etc, by the protease solution system that relies on ubiquitin. Study proves that Gankyrin plays an important role in tumorigenesis and cell cycle control of digestive system neoplasms. It has certain application prospect in the early diagnosis and prognosis of digestive system neoplasms and may become a promising target for therapy.

Key words: Digestive system neoplasms; Oncogene; Gankyrin

Chinese Library Classification(CLC): R735 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)04-789-03

癌基因的过度表达与肿瘤的发生发展关系密切^[1]。Gankyrin 是一种癌基因, 在人肝细胞癌中特异性高表达^[2]。研究表明, Gankyrin 在消化系统正常组织中低表达。而在肿瘤细胞中高表达, 比如肝细胞癌、食管鳞状细胞癌、结肠直肠癌、胰腺癌、胃贲门癌等^[3,4]。下面就 Gankyrin 与消化系统肿瘤的研究进展进行综述。

1 Gankyrin 的分子结构

Gankyrin 又名 p28GANK 或 PSMD10^[5], 是位于人类染色体 Xq22.3 的基因^[6], 它是包括 226 个氨基酸, 分子量为 25kDa 的小分子蛋白, 含有 7 个锚蛋白重复序列并且高度保守^[7]。锚蛋白重复序列是由小的模体 (30-50 个氨基酸残基) 串联构成^[8]。锚蛋白结构域使锚蛋白能够与多种配体相结合, 介导蛋白质之间的相互作用, 完成复杂的生物功能^[1]。

Gankyrin 的晶体结构显示, 由 β 发夹和螺旋-环-螺旋结构够成的锚蛋白结构域串联构成表面有凹槽的 Gankyrin 分子, 凹槽是与其他分子发生相互作用的场所。Gankyrin 通过依赖泛素的蛋白酶解系统, 介导多种抑癌蛋白、细胞周期调控蛋

白以及转录因子的降解^[1]。

2 Gankyrin 与 CDK4、Rb、S6-ATP 酶、P53 等分子的相互作用

细胞的增值是通过抑癌基因所控制, 两个主要抑癌基因 (细胞瘤蛋白)P53 与 pRb, 对细胞周期起非常重要的的调控作用。转录因子 E2F 的阻遏蛋白 pRb 是通过细胞周期依赖性蛋白激酶 CyclinD-CDK4/6 相关蛋白与 CyclinE-CDK2 相关蛋白的复合物所磷酸化, 并通过泛素-蛋白酶体通路所降解。P53 通过泛素化连接酶泛素化来降解^[9], CDK4 与 Rb、26S 蛋白酶体的 19S 调控复合体的 S6ATP 酶、E3 泛素连接酶 MDM2 形成复合物参与 P53 的降解^[7]。P53 与 pRb 的降解可导致细胞过度增殖及肿瘤细胞的形成, 两者的降解是通过 Gankyrin 来调控^[9]。

研究发现, 原癌基因 Gankyrin 与细胞周期的发展、细胞凋亡相关, 并且通过结合与调节一系列蛋白 (包括 pRb、MDM2、S6ATP 酶、CDK4) 参与蛋白酶体的降解^[10]。

Gankyrin 是 26S 蛋白酶体的亚基, 通过凹槽与 C 末端结构域连接^[9], 可特异性结合 19S 调控复合体的 S6ATP 酶 (可降解泛素化蛋白)^[6,11]。Gankyrin 结构十分紧密与 S6ATP 酶高度选择性连接后, 其结构变化不大, 其连接是通过带电的氨基酸残基发生的相互作用。S6ATP 酶及其细胞周期依赖性蛋白激酶 CDK4 与 Gankyrin 的连接在其同一个部位, 但不是同时性连

作者简介: 王菁 (1983-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向: 消化道肿瘤, 电话: 15104661629, E-mail: wa.jing123@163.com

[△]通讯作者: 姜爱民, E-mail: jiangaimin@medmail.com.cn

(收稿日期: 2013-03-20 接受日期: 2013-04-18)

接,可以推测 Gankyrin 的功能为携带 pRb 到 26S 蛋白酶体,此时 Gankyrin 与 S6ATP 酶连接并释放 pRb 已促其在 26S 蛋白酶体中降解^[9]。

Rb 与 CDK4 的结合位点分别位于 Gankyrin G-端与 N-端结构域,位于 Gankyrin 分子的同一侧面,之间相隔相对稳定的锚蛋白重复序列及密集度较高的阳性表面电荷^[1]。Gankyrin 与 CDK4 的连接能阻止 CDK4 与(抑癌基因)p16INK4a 的连接,从而增加细胞的增殖^[5]。Gankyrin 通过控制 pRb 与 CDK4 的磷酸化,并通过 E3 泛素连接酶 MDM2 来增加 P53 泛素化,来增加肿瘤细胞的增殖^[12]。Gankyrin 与 MDM2 的连接来增加 P53 的泛素化,可能通过 P53/p21(p21 为一般 CDKs 的抑制剂)直接影响 CDK4-Rb 途径^[13]。

在对细胞增殖及凋亡研究中发现,细胞的 G1/S 期可能为细胞周期中凋亡的不敏感时期^[14],S6-ATPase-Gankyrin-Rb-E2F1 的相互作用可控制 E2F1 涉及 G1 期向 S 期转换的稳定性^[11],Gankyrin 与 Rb 的连接,促进了蛋白酶体介导的 Rb 的降解,从而导致转录因子 E2FS 的激活,促使细胞进入增值周期,从而促进了细胞的恶性转化^[15]。

3 Gankyrin 与消化系统肿瘤

3.1 Gankyrin 与肝癌

Gankyrin 在肝癌组织中高度表达^[5],弱阳性表达于肝纤维化组织,于正常组织中无表达,肝癌中 Gankyrin mRNA 的表达量与肿瘤的分化程度及转移潜能有关^[1]。

近十年来肝癌的发病机制是目前研究热点,研究提示全球肝癌组织中基因表达的变化及特定信号通路的改变^[15],Gankyrin 在肝癌组织中高度表达^[5],是释放生长抑制因子从而控制肝细胞及肝癌发展的一个关键因素。通过降解肿瘤抑制蛋白 Rb、P53 及 C/EBP α 的机制与 Gankyrin 的表达密切相关。C/EBP α 是一种肿瘤抑制蛋白^[16],在肝细胞中高度表达,是许多代谢过程的调节器。C/EBP α 可以维持肝细胞处于静止状态^[16],其生长抑制活性的消除是肝癌发展的关键步骤^[15],Gankyrin 在肝癌组织中表达水平的提高激活了 UPS(泛素-蛋白酶体系统)对 C/EBP α 的降解。Gankyrin 与 C/EBP α (细胞转录因子)的亚型 S193-ph(丝氨酸 193)相互作用^[16],CyclinD3-CDK4 相关蛋白使 C/EBP α 转变为 S193-ph 的形式,并且使磷酸化的 S193-ph 成为 UPS 介导降解的目标^[16,17]。

Ras 通过调控下游不同的信号通路来调控细胞的增殖和分化,其中 PI3K-Akt 信号通路最重要的信号通路之一,Ras 上调 Gankyrin 的表达水平通过激活(磷酸肌醇 3-激酶/Akt)PI3K-Akt 途径,阻断此通路都可以有效的阻断 Ras 介导的细胞转化与肿瘤发生^[5,18]。

肝细胞癌显示了明显的染色体变异,至少参与了三种信号通路:P53、Rb 及 Wnt/ β -catenin 信号通路,控制细胞增值的信号通路的组成成分的变异是哺乳动物引发肿瘤的基础。上调 Gankyrin 的表达水平最终增加了转录因子 β -catenin 的活性, β -catenin 在细胞增值、组织内环境稳定、肿瘤形成起非常重要的作用。Gankyrin 的表达被包括 β -catenin 在内的正反馈环所调控, β -catenin 的过剩可以导致 Gankyrin 的蓄积,而这个可能在肝癌的形成及发展中起重要的作用^[5]。Gankyrin 在肝细

胞癌的病理诊断方面具有一定的应用前景,同时也可能成为肝细胞癌基因治疗的潜在靶点^[1]。

3.2 Gankyrin 与结直肠癌

Gankyrin 可能通过调节 cyclinD1 及 β -catenin 的表达水平及其他需要进一步研究的分子机制,来影响结直肠癌的生长、增殖及局部肿瘤的生成。通过免疫组化法及 WesternBlot 实验方法,对原发性结直肠癌组织、癌旁组织及体外培养细胞进行研究,发现 Gankyrin 在人结直肠癌及其细胞中过度表达,并且上调 Gankyrin 能潜在的增加恶性肿瘤的生长,抑制 Gankyrin 的表达能够抑制体内外细胞的增值及肿瘤形成的潜能。Gankyrin 的高表达与结直肠癌的 TNM 分期及转移相关,Gankyrin 可能是一个结直肠癌重要的发病机制,并且增加了结直肠癌基因治疗的靶点。发现 Gankyrin 的临床诊断价值及作为靶向治疗的靶点,仍需进一步研究^[19]。

3.3 Gankyrin 与胰腺癌

Gankyrin 可能通过调整 P53 与各种细胞周期相关蛋白(cyclinD1,cyclinE,cyclinA,CDK4,CDK2,PCNA 等)来控制细胞周期从 G1 期向 S 期转化,来促进胰腺癌细胞的增值,这些蛋白可能是致癌基因,可调控肿瘤的发展。下调 Gankyrin 能增加 P53 与 Rb 的表达,而 P53 与 Rb 抑制细胞周期进展。近期研究 64 例原发性胰腺癌及其癌旁组织发现,Gankyrin 的表达在胰腺癌组织中明显高于正常胰腺组织,进一步分析表明:gankyrin 的表达跟肿瘤的分化、TNM 分期及肿瘤的大小相关。Gankyrin 可以做为一个新的有效治疗胰腺癌的靶基因^[9]。

3.4 Gankyrin 与食管癌

通过对人食管癌组织及癌旁组织研究发现,Gankyrin 在食管癌细胞中高表达,其过度表达与食管癌的不良预后关系密切,其高表达可以作为观察预后的一个独立因素。C.M. Ortiz 等人通过体外细胞研究发现,下调 Gankyrin 可以抑制食管癌细胞的增值、能动性及侵袭力,增加处于 G1/S 期细胞的数量,在肿瘤细胞增值过程中起重要作用,是一个停止食管癌细胞增值的极佳的靶基因。Gankyrin 增加细胞能动性及侵袭力的机制不是不明。Gankyrin 的表达与食管癌原发肿瘤的恶性程度、局部淋巴结转移、远部淋巴结转移及其分期相关。在食管癌组织的高表达,可以作为预测病人的生存率及其不良预后的有用指标,可以作为治疗食管癌的靶基因^[20]。

3.5 Gankyrin 与胃癌

2009 年 Li X 等人发现 Gankyrin 的过度表达可以导致胃癌细胞出现多耐药性^[21]。利用免疫组化技术对 69 例胃贲门癌中 Gankyrin 表达情况的检测,在胃贲门癌中 Gankyrin 的表达跟肿瘤的转移及其分期关系密切,有望成为新的肿瘤标志性分子。可用于胃癌基因治疗的新靶点,但其早期诊断、预后及其基因治疗还需进一步探索^[9]。

4 总结及未来展望

Gankyrin 与多种组织的肿瘤形成相关^[15],2000 年 Higashitsuji 等首次发现肝癌组织中存在 Gankyrin 超表达^[2]。后来研究者相继对胰腺癌、食管鳞状细胞癌、胃贲门癌、结直肠癌进行研究发现,Gankyrin 在肿瘤细胞中高表达,其与消化道肿瘤肿瘤细胞的增值及分化相关,可以作为肿瘤预后、早期诊断

及其基因靶向治疗的新的探索及其研究方向。Gankyrin 在胆囊癌、胆管细胞癌中的表达及临床意义还未见报道,是否与胆囊癌、胆管细胞癌的早期诊断、预后相关尚需要进一步探索研究。

Gankyrin 在细胞周期及肿瘤的形成起着重要作用,但是在正常细胞的增殖及分化的病理生理作用仍不是很清楚^[20]。通过对体外单一癌细胞研究发现证实 Gankyrin 所调控的蛋白参与了各种生理学功能(抑制细胞周期、蛋白的降解、新陈代谢),而这突出了 Gankyrin 的多种功能。但这些功能需要通过体内外实验去进一步证实^[22]。

参考文献(References)

- [1] 张燕捷, 房静远. Gankyrin 分子结构及其功能研究进展 [J]. 肿瘤, 2006, 26(12): 1124-1130
Zhang Yan-jie, Fang Jing-yuan. The molecular structure and function research progress of Gankyrin[J]. Tumor, 2006, 26(12): 1124-1130
- [2] Higashitsuji H, Itoh K, Nagao T, Dawson S, et al. Reduced stability of retinoblastoma protein by Gankyrin, an oncogenic ankyrin repeat protein overexpressed in hepatomas[J]. NatMed, 2000, 6(1): 96-99
- [3] Yun Meng, Li Jie-he, Xue Gang-guo, et al. Gankyrin promotes the proliferation of human pancreatic cancer [J]. Cancer Letters, 2010, 297: 9-17
- [4] 宋斌, 廖金平, 艾小顺, 等. Gankyrin 在胃贲门癌中的表达及临床意义 [J]. Modern Oncology, 2010, 18(10): 2018-2020
Song Bin, Liao Jin-ping, Ai Xiao-shun, et al. Overexpression of gankyrin and its clinical significance in gastric cardiac cancer [J]. Modern Oncology, 2010, 18(10): 2018-2020
- [5] Li Wei-dong, Guang Zhen-yang, Yu Fei-pan, et al. The oncoprotein p28GANK establishes a positive feedback loop in β -catenin signaling [J]. Cell Res, 2011, 21(8): 1248-1261
- [6] Hori T, Kato S, Saeki M, et al. cDNA cloning and functional analysis of p28 (Nas6p) and p40.5 (Nas7p), two novel regulatory subunits of the 26S proteasome[J]. Gene, 1998, 216: 113-122
- [7] Krzywda S, Brzozowski AM, Higashitsuji H, et al. The crystal structure of gankyrin, an oncoprotein found in complexes with cyclin-dependent kinase 4, a 19 S proteasomal ATPase regulator, and the tumor suppressors Rb and p53[J]. J. Biol. Chem, 2004, 279(2): 1541-1545
- [8] David Serquera, Whasil Lee, Giovanni Settanni, et al. Mechanical Unfolding of an Ankyrin Repeat Protein[J]. Biophys J, 2010, 98(7): 1294-1301
- [9] Yoshihiro Nakamura, Kazumi Nakano, Takashi Umehara, et al. Structure of the Oncoprotein Gankyrin in Complex with S6 ATPase of the 26S Proteasome[J]. Structure, 2007, 15: 179-189
- [10] Guo Yi, Yuan Chun-hua, Tian Feng, et al. Contributions of Conserved TPLH Tetrapeptides to the Conformational Stability of Ankyrin Repeat Proteins[J]. J Mol Biol, 2010, 399(1): 168-181
- [11] Dawson S, Apcher S, Mee M, et al. Gankyrin is an ankyrin-repeat oncoprotein that interacts with CDK4 kinase and the S6 ATPase of the 26S proteasome[J]. J. Biol. Chem, 2002, 277: 10893-10902
- [12] Dawson S, Higashitsuji H, Wilkinson AJ, et al. Gankyrin: a new oncoprotein and regulator of pRb and p53 [J]. Trends Cell Biol, 2006, 16: 229-233
- [13] Yi Guo, Anjali Mahajan, Chunhua Yuan, et al. Comparisons of the Conformational Stability of Cyclin-Dependent Kinase (CDK) 4-Interacting Ankyrin Repeat (AR) Proteins[J]. Biochemistry, 2009, 48(19): 4050-4062
- [14] Collins N, Reginato M, Paulus JK, et al. G1/S cell cycle arrest provides anoikis resistance through erk-mediated bim suppression [J]. Mol Cell Biol, 2005, 25: 5282-5291
- [15] Polina Iakova, Lubov Timchenko, Nikolai A. Timchenko. Intracellular Signaling and Hepatocellular Carcinoma [J]. Semin Cancer Biol, 2011, 21(1): 28-34
- [16] Wang Guo-li, Shi Xiu-rong, Simon Haefliger, et al. Elimination of C/EBP α through the ubiquitin-proteasome system promotes the development of liver cancer in mice[J]. J Clin Invest, 2010, 120(7): 2549-2562
- [17] Wang G-L, Shi X, Salisbury E, et al. Cyclin D3 maintains growth inhibitory activity of C/EBP α by stabilizing C/EBP α -cdk2 and C/EBP α -Brm complexes[J]. Mol Cell Biol, 2006, 26: 2570-2582
- [18] 满江红, 张学敏. Gankyrin 通过 PI3K 信号通路调节 Ras 介导的肿瘤发生[D]. 北京: 军事医学科学院仪器测试分析中心, 2008: 1-63
Man Jiang-hong, Zhang Xue-min. Gankyrin is required for Ras-driven tumorigenesis through regulation of PI3K signaling[D]. Beijing: Military academy of medical sciences instrument testing analysis center, 2008: 1-63
- [19] S.Tang, G.Yang, Y. Meng, R. Du, et al. Overexpression of a novel gene gankyrin correlates with the malignant phenotype of colorectal cancer[J]. Cancer Biology & Therapy, 2010, 9(2): 88-95
- [20] C.M. Ortiz, T. Ito, E. Tanaka, S. Tsunoda, et al. Gankyrin oncoprotein overexpression as a critical factor for tumor growth in human esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance [J]. Int.J. Cancer, 2008, 122: 325-332
- [21] Li X, Zhang Y, Xiong C, et al. Overexpression of a New gene p28GANK confers multidrug resistance of gastric cancer cells [J]. Cancer Invest, 2009, 27: 129-139
- [22] Xue Luo, Liang Chen, Jiang Dai, et al. Gankyrin gene deletion followed by proteomic analysis: insight into the roles of Gankyrin in Tumorigenesis and Metastasis[J]. BMC Med Genomics, 2012, 5(36): 1-11