

N-ras 基因致癌与抑癌的双向作用

章诺贝 罗忠金 黄缘 张吉翔

【摘要】 *N-ras* 早已被确立为癌基因,但近年来研究发现它还存在着抑制肿瘤发生发展的作用。现介绍 *N-ras* 基因的结构特点及其致癌机制的新理论,并在此基础上从抑制肿瘤细胞增殖和促进肿瘤细胞终末分化两方面重点对其抑癌作用的国内外研究进展作一综述。

【关键词】 *N-ras*; 增殖; 分化; 抑癌作用

The Dual Effects of *N-ras* on Carcinogenesis and Anti-carcinoma ZHANG Nuo-bei, LUO Zhong-jin, HUANG Yuan, ZHANG Ji-xiang. (Department of Digestion, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University; Key Laboratory of Molecular Medicine, Sichuan Province, Nanchang 330006, P. R. China)

Corresponding author :ZHANG Ji-xiang. E-mail : jixiangz@tom.com

【Abstract】 The action of *N-ras* as a oncogene is well-known, however, its effect on suppressing the development of carcinoma are recognized recently. This review introduces the structural features of *N-ras* and the new theory of its effect on carcinogenesis, expatiates on the mechanisms of anti-carcinoma through suppressing the proliferation of cells and promoting the differentiation of cells.

【Keywords】 *N-ras*; Proliferation; Differentiation; Anti-carcinoma

癌基因 *N-ras* 因其与人类多种恶性肿瘤的发生发展密切相关而被人们广泛研究。被激活的 *N-ras* 基因可发生突变,其可通过改变蛋白质的催化活性从而加强下游的信号,最终导致细胞的增殖并向恶性转化。同时 *N-ras* 基因也参与着对细胞老化和凋亡的精密调控。现就 *N-ras* 基因的双向作用,重点对其抑癌作用的研究进展作一综述。

1 *N-ras* 基因的概念

N-ras 是 *ras* 基因家族成员之一,首先是从人神经母细胞瘤中分离得到的,定位与 1 号染色体,其临近基因依次为: *CD2*、*NGFB*、*NRAS*。哺乳动物的 *ras* 基因家族包括: *H-ras*、*K-ras* 和 *N-ras*。*Ras* 家族的基因所共有的特征为:①基因组中均含有 4 个编码的外显子和 1 个 5' 端非编码外显子。②外显子所编码的蛋白为 188 ~ 189 个氨基酸残基,相对分子质量为 21 kDa 即 p21 蛋白,此蛋白具有高度特异性和同源性,尤其在氨基酸序列的前 80 个氨基酸残基中,几乎无种属间差别,具有高度保守性。*Ras* 蛋白对

GTP(三磷酸鸟苷)和 GDP(二磷酸鸟苷)具有高度亲和力和,并具有同源性 GTP 酶的活性。*Ras* 蛋白的这些生化性质与 G 蛋白非常类似,而 G 蛋白具有从膜结合受体到腺苷酸环化过程的信号传导作用,此提示 *Ras* 蛋白可能也具有信号传导通路的作用,从而参与正常细胞生长的调控。*N-ras* 基因有两个分别为 2kb 和 4.3kb 的转录区域。*N-ras* 基因包括 7 个外显子(- I、II、III、IV、V、VI)。2 kb 的转录区域包含了 VI a 外显子,而 4.3kb 的转录区域包含了 VI b 外显子。这两个转录区域编码相同的蛋白产物。

2 *N-ras* 基因的致癌作用

目前较为公认的 *N-ras* 基因突变点位于其第 12、13、61 位氨基酸密码子。这些位点的致瘤性点突变降低了 *Ras* 蛋白水解 GTP 为 GDP 的能力。突变的 *Ras* 蛋白降低了自身内源性鸟苷酸三磷酸酶(GTPase)的活性,更重要的是还降低了它们与 GTPase 活化蛋白的结合能力,其结果是导致 *Ras* 蛋白与 GTP 的持续结合并具有促进细胞增殖的作用。

最近发现, *N-ras* 基因的高表达水平可通过 Ral-GEF (*Ras* related GTPase -guanine exchange factor)途径导致细胞周期依赖激酶(cyclin-dependent kinase, CKD)抑制子 p27 在胞浆中的错误定位从而干扰正

基金项目:国家自然科学基金(No. 30360037)

作者单位:330006,南昌大学第二附属医院消化科 江西省分子医学重点实验室

通讯作者:张吉翔(E-mail : jixiangz@tom.com)

常的细胞周期调控; 同时还可通过 mitogen/extracellular signal-regulated kinase (MEK)/extracellular signal-regulated kinase (ERK) 途径干扰由转化生长因子(transforming growth factor β , TGF- β) 所介导的 Smad 核转位(nuclear translocation) 最终导致肿瘤的发生。其次, *N-ras* 基因还可通过在转录水平上下调 Fas 受体的表达从而降低由 Fas 介导的细胞死亡易感性从而促进肿瘤的发生。另外, *N-ras* 基因可通过调控磷酸化 Akt 和 Bad 的稳态水平或调控 Jun 氨基末端蛋白激酶(Jun N-terminal protein kinase, JNK)/p38 活性的持续时间从而提供一个稳定的抗凋亡信号水平^[1-4]。

N-ras 基因表达水平上升虽然主要发生在造血系统的恶性肿瘤中: 白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、恶性纤维性组织细胞瘤, 但在恶性黑素瘤、乳腺癌、甲状腺癌、宫颈癌、肝癌中的表达也有一定的上升。

3 *N-ras* 基因的抑癌作用

3.1 *N-ras* 基因对细胞恶性增殖的抑制作用: 野生型能够抑制肿瘤细胞增殖的证据如下: ①在肿瘤细胞中出现野生型 *N-ras* 等位基因的缺失; ②癌基因 *N-ras* 表达超过野生型 *N-ras* 可使生长处于抑制状态的细胞重新开始生长; ③上调 *N-ras* 基因的表达可抑制细胞的生长。野生型 *N-ras* 可通过与 GDP 或 GTP 结合从而对抗癌基因 *N-ras* 的功能^[5]。

Diaz 等^[6] 把胸腺淋巴瘤细胞分别导入 *N-ras* 缺失型小鼠和野生型 *N-ras* 过度表达的转基因小鼠体内后发现: 缺乏野生型 *N-ras* 等位基因的小鼠胸腺淋巴瘤细胞更容易生长, 而野生型 *N-ras* 过度表达的小鼠体内的胸腺淋巴瘤发生发展的速度减缓。进一步把野生型 *N-ras* 导入 *N-ras* 缺失型肿瘤细胞内后发现肿瘤细胞的生长速度明显减慢。上述研究结果提示野生型 *N-ras* 有抑制肿瘤发生发展的作用。

N-ras 基因常通过其下游的效应子 Ras 相关结构域因子基因 1(ras-associated domain family gene 1, RASSF1) 转导信号, 从而抑制多种肿瘤细胞的恶性表型。RASSF1 基因是一坐落于人类染色体 3p21.3 的抑癌基因, 在许多恶性肿瘤中常通过启动子超甲基化而发生等位基因的缺失以及基因的沉默, 其突变与包括肺癌、膀胱癌、乳腺癌、肾癌在内的多种恶性肿瘤的发生有关。

另外还发现, *N-ras* 基因可抑制 T 细胞淋巴瘤的发生发展, 却可促进 B 细胞淋巴瘤的发生发展。从而提示 *N-ras* 可根据组织类型的不同从而发挥抑制

或促进细胞增殖的作用^[7]。

癌基因 *ras* 介导的转化与组蛋白修饰下调之间的联系是触发细胞老化的关键步骤。*N-ras* 基因可通过视网膜母细胞瘤基因(retinoblastoma, *Rb*) 途径触发细胞老化(cellular senescence), 而 *Rb* 通过异染色质的形成介导促生长类基因的沉默过程与 H3K9 (histone H3 lysine 9) 的甲基化密切相关。最近发现, 上述机制可能依赖组蛋白甲基转移酶 Suv39h1 的活性。以上提示 *N-ras* 基因可通过 Suv39h1 和 H3K9 甲基化抑制肿瘤细胞的增殖^[8,9]。

在骨髓细胞中异位的 *N-ras* 基因除了通过 *p14^{ARF}*、*p16^{INK4a}*、*p15^{INK4b}*、*p19^{ARF}*、*p53* 等还可通过上调 *p21^{CIP1/WAF1}* 的活性从而抑制细胞增殖, *p21^{CIP1/WAF1}* 是目前已知具有最广泛活性的细胞周期抑制基因, 参与细胞增殖、分化、衰老、凋亡以及 DNA 损伤修复等多种功能的调节。干扰素调控因子-1(interferon regulatory factors-1, IRF-1) 是 *p21^{CIP1/WAF1}* 的转录启动子, 所以可提示 *N-ras* 基因抑制细胞增殖的过程可以由 IRF-1 所介导。IRF-1 具有肿瘤抑制基因活性, 可通过调控干扰素(IFN) 系统抑制细胞的增殖^[10]。

2005 年, Vaqué 等^[11] 还发现, *N-ras* 癌蛋白还可利用 Raf-MEK-ERK 信号转导系统途径激活 *p21* 启动子从而抑制慢性粒细胞白血病细胞株 K562 的克隆性增殖。证据如下: ①*N-ras* 效应子突变体可通过 Raf 信号途径上调 *p21* 而不需要磷酸肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 以及 Ral-GDS 途径。②*p21* 的上调可被 MEK 抑制子 PD98059 所终止, 但却不能被 PI3K 抑制子 LY294002 所终止。③高水平的激动 Raf 和 ERK 同样也可激活 *p21*。

Demunter 等^[12] 运用变性梯度凝胶电泳法(DGGE) 发现在 15% 的多发性骨髓瘤中存在一个新的 *N-ras* 突变位点, 即外显子 1 中的第 18 号密码子(GCA \rightarrow ACA), 此突变可通过干扰 Ras 依赖性丝裂信号途径(ras-dependent mitogenic signaling pathway) 抑制肿瘤细胞的增殖。

3.2 *N-ras* 基因对细胞终末分化的促进作用: *N-ras* 不仅可以抑制原始细胞增殖还可介导细胞的终末分化。在大多数组织中, 尤其在肌肉组织中可促进分化, 而在神经、骨髓组织中却可阻止分化。而由 ras 介导的分化又常常伴随着其对细胞增殖的抑制^[13]。

Takahashi 等^[14] 发现丢失 1 个或 2 个 *N-ras* 等位基因可以通过促进细胞终末分化而显著降低 *Rb^{+/-}* 动物的垂体瘤的恶性程度; 相反, *Rb^{+/-}* 动物滤泡旁降钙素(calcitonin) 分泌细胞源性甲状腺瘤即 C 细胞

甲状腺瘤在 *N-ras* 缺失后,进展成为具有高度转移性的髓样细胞癌。在 *Rb*^{+/-}、*N-ras*^{+/-} 动物中甲状腺髓样细胞癌的远距转移与野生型 *N-ras* 等位基因缺失有关。在 *Rb1* 缺失型 C 细胞中 *N-ras* 的丢失可导致 Ras 同系物家族 A (Ras homolog family A, RhoA) 活性的增强,这与肿瘤细胞侵袭与转移能力的增强有关。以上结果提示在某类细胞中 *N-ras* 基因的缺失可促进肿瘤的发生发展。

N-ras 基因的缺失能阻止归属于内分泌肿瘤的垂体腺瘤的发生发展,但是,却能促进属于神经内分泌肿瘤的 C 细胞甲状腺瘤的发生发展。此提示 *N-ras* 基因对肿瘤发生的影响具有细胞类型依赖性。在垂体瘤和甲状腺瘤中的 *Rb1* 和 *N-ras* 之间的基因作用均只影响肿瘤的分化状态。把癌基因 *ras* 导入神经内分泌起源的细胞株,如甲状腺髓样细胞癌、小细胞肺癌、嗜铬细胞瘤内后可推动它们的分化。在 *Rb1* 缺失型 C 细胞中,*N-ras* 基因的丢失可使 C 细胞在胚胎发生时就具有迁移和侵袭能力,此可赋予 C 细胞肿瘤较强的转移潜能。

4 结语

综上所述, *N-ras* 基因在调控增殖、癌变与凋亡、老化之间的平衡中发挥着重要作用。虽然现今对于 *N-ras* 基因的致癌作用已有较为深入的了解,但对其抑癌作用的研究却相对较少:① *N-ras* 基因具体在哪些肿瘤中扮演着抑癌基因的角色;②野生型 *N-ras* 是如何逆转其突变体的致癌作用的。弄清 *N-ras* 对于不同的机体组织来说到底是“天使”还是“魔鬼”将为在肿瘤的基因治疗方面开辟一条崭新的途径。

参 考 文 献

1 Kfir S, Ehrlich M, Goldshmid A, *et al.* Pathway- and expression level-dependent effects of oncogenic N-Ras: p27Kip1 mislocalization

by the Ral-GEF pathway and Erk-Mediated interference with smad signaling. *Mol Cell Biol*, 2005, 25 :8239-8250.

2 Urquhart JL, Meech SJ, Marr DG, *et al.* Regulation of fas-mediated apoptosis by N-ras in melanoma. *J Invest Dermatol*, 2002,119: 556-561.

3 Wolfman JC, Palmby T, Der CJ, *et al.* Cellular N-Ras promotes cell survival by downregulation of jun N-terminal protein kinase and p38. *Mol Cell Biol*, 2002, 22 :1589-1606.

4 Wolfman JC, Wolfman A. Endogenous c-N-Ras provides a steady-state anti-apoptotic signal. *J Biol Chem*, 2000, 275:19315-19323.

5 Singh A, Sowjanya AP, Ramakrishna G. The wild-type Ras: road ahead. *FASEB J*,2005,19:161-169.

6 Diaz R, Ahn D, Lopez-Barcons L, *et al.* The N-ras proto-oncogene can suppress the malignant phenotype in the presence or absence of its oncogene. *Cancer Res*, 2002, 62 :4514-4518.

7 Diaz R, Lopez-Barcons L, Ahn D, *et al.* Complex effects of Ras proto-oncogenes in tumorigenesis. *Carcinogenesis*, 2004, 25 : 535-539.

8 Braig M, Loddenkemper C, Peters AH, *et al.* Impaired histone H3 lysine 9 methylation accelerates Ras-driven lymphomagenesis by disabling cellular senescence. *Blood*, 2004, 104: 346.

9 Braig M, Lee S, Loddenkemper C, *et al.* Oncogene-induced senescence as an initial barrier in lymphoma development. *Nature*, 2005, 436 :660-665.

10 Passioura T, Dolnikov A, Shen S, *et al.* N-Ras-induced growth suppression of myeloid cells is mediated by IRF-1. *Cancer Res*, 2005,65:797-804.

11 Vaqué JP, Navascues J, Shiio Y, *et al.* Myc antagonizes ras-mediated growth arrest in leukemia cells through the inhibition of the Ras-ERK-p21^{Cip1} pathway. *J Biol Chem*, 2005,280 :1112-1122.

12 Demunter A, Ahmadian MR, Libbrecht L, *et al.* A novel N-ras mutation in malignant melanoma is associated with excellent prognosis. *Cancer Res*,2001,61:4916-4922.

13 Crespo P, Leon J. Ras proteins in the control of the cell cycle and cell differentiation. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57 : 1613-1636.

14 Takahashi C, Contreras B, Iwanaga T, *et al.* N-ras loss induces metastatic conversion of *Rb1*-deficient neuroendocrine thyroid tumor. *Nat Genet*, 2006,38:118 - 123.

(收稿日期:2006-03-22)

(本文编辑:王璐)