

# 雨虎属 Ras 同系物- 基因及其与口腔肿瘤间的关系

张雪<sup>1</sup> 李一军<sup>2</sup>综述 陈英新<sup>2</sup>审校

(1.第四军医大学口腔医院综合科 西安 710032; 2.吉林大学口腔医院 VIP 综合科 长春 130021)

[摘要] 雨虎属 Ras 同系物(arh)- 基因参与细胞周期调控和信号通路的传导,从而负向调节细胞生长和诱发程序性细胞死亡。arh- 基因在卵巢、乳腺和胰腺等癌细胞中均有表达缺失,即 arh- 基因与肿瘤的形成和发展密切相关。本文就 arh- 基因的定位与结构、作用途径和与肿瘤间的关系等研究进展作一综述。

[关键词] 雨虎属 Ras 同系物- ; 甲基化; 口腔肿瘤

[中图分类号] Q 786 [文献标志码] A [doi] 10.3969/j.issn.1673-5749.2012.02.025

**Relationship between tumor suppressor genes *Aplysia Ras homolog-* and oral cancer** Zhang Xue<sup>1</sup>, Li Yijun<sup>2</sup>, Chen Yingxin<sup>2</sup>. (1. Dept. of General Dentistry, Hospital of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2. Dept. of VIP General Dentistry, Stomatological Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China)

[Abstract] *Aplysia Ras homolog-* genes involved in cell cycle regulation and signaling pathways of transmission, thus the negative regulation of cell growth and induce programmed cell death. arh- gene in ovarian, breast and pancreas cancer cells in both the loss of expression, arh- gene and tumor formation and development are closely related. This article on the arh- gene location and structure, mechanism and relationship with cancer research are reviewed.

[Key words] *Aplysia Ras homolog-* ; methylation ; oral tumor

雨虎属 Ras 同系物(*Aplysia Ras homolog*, arh)- 基因是由美国得克萨斯大学安德森癌症中心的 Yu等<sup>[1]</sup>于1999年采用差异 PCR 技术,从人的卵巢和乳腺上皮细胞及其癌细胞中克隆得到的。该基因参与细胞周期调控和信号通路的传导,从而负向调节细胞生长和诱发程序性细胞死亡。该基因的缺失或下降与 CpG 岛异常甲基化有关,从而导致肿瘤的产生。

## 1 arh- 基因的定位与结构

arh- 基因定位于人染色体 1p31,约 8 kb大小,其中包括 2 个外显子,1 个内含子。第一外显子大小仅为 81 bp,不编码任何氨基酸,第二外显子大小为 687 bp,2 个外显子被一个 3.2 kb 大小的内含子分隔<sup>[2]</sup>。在 arh- 基因转录起始位点上游 21 bp 处,有 TATA 盒;转录起始位点的上游 401 bp 处,有转录因子-E<sub>2</sub>F 结合区。在第二外

显子末端有 2 个 poly-A 信号,在 arh- mRNA 的 3' 末端有 4 个 AU-rich 区域<sup>[3]</sup>。arh- 基因有 3 个潜在的 CpG 岛,CpG 岛和 位于启动区,CpG 岛 则位于编码区内,Sac-、BssH-、BstU- 和 Hpa- 等甲基化敏感性限制性内切酶均能识别这些 CpG 岛<sup>[2,4]</sup>。

## 2 arh- 基因的作用途径

arh- 是一种印迹基因。在子代中,其母源性 arh- 等位基因失活,仅有父源性 arh- 等位基因表达。arh- 两个等位基因的差异性表达,是 arh- DNA 上 CpG 岛的甲基化修饰程度不同的结果。arh- 基因通过两种途径表达。其一,通过需钙蛋白酶诱导癌细胞程序性死亡。Bao等<sup>[5]</sup>用二元腺病毒系统重新在已缺失 arh- 基因的卵巢癌细胞和乳腺癌细胞中表达 arh- 基因,结果癌细胞生长受到抑制,浸润性降低,被诱导程序性死亡。腺病毒转化 5 d 后,有 30%~45%的乳腺癌细胞和 5%~11%的卵巢癌细胞程序性死亡。研究证实,arh- 基因经腺病毒感染后表达上调是通过需钙蛋白酶来实现的。其二,通过信号转导

[收稿日期] 2011-08-25; [修回日期] 2011-11-15

[基金项目] 吉林省科技厅综合计划基金资助项目(200705346)

[作者简介] 张雪(1984—),女,河北人,住院医师,硕士

[通讯作者] 陈英新, Tel: 15948764476

子和转录激活子(signal transduction and activator of transcription, STAT)-3抑制癌细胞。Nishimoto等<sup>[6]</sup>通过酵母双杂交试验发现, Arh- 蛋白与 Stat-3 蛋白相互作用并在细胞质中形成复合体, 阻止了白细胞介素-6 介导的 Stat-3 蛋白进入细胞核, 从而降低了 Stat-3 蛋白与 DNA 之间的结合和 Stat-3 蛋白依赖的启动子活性。删除 Arh- 蛋白的 N-末端, 可大大地降低其抑制活性。Arh- 蛋白与 Stat-3 蛋白间的物理结合及其对 Stat-3 蛋白转录活性的功能性抑制, 证明了 arh- 基因的抑癌作用。

### 3 arh- 基因与肿瘤间的关系

在正常的卵巢、乳腺和胰腺等细胞中, 均有 arh- mRNA 的表达; 但是在这几种组织的癌细胞中, arh- 基因不同程度的缺失和低表达<sup>[7-8]</sup>。这说明, arh- 基因很可能与肿瘤的形成和发展有着密切的联系。

在卵巢癌, Feng等<sup>[9]</sup>在研究 arh- 基因的表达、杂合性缺失以及启动子甲基化情况时发现, 88%(35/40)的卵巢癌出现了 arh- 基因的表达下调, arh- 基因启动子的 CpG 岛 和 的超甲基化率分别是 31%(12.4/40)和12%(4.8/40), 有 18 例 CpG 岛超甲基化的卵巢癌中出现了 arh- 基因低表达。Bao等<sup>[10]</sup>用无 arh 基因表达的裸鼠模型构建出人乳腺癌和卵巢癌模型, 将含有 arh- 基因腺病毒载体的液体注射到模型鼠癌组织中, 结果肿瘤体积明显缩小。Wang等<sup>[11]</sup>在用免疫组织化学染色检测乳腺癌组织中 Arh- 蛋白的表达情况时发现, arh- 基因在 41%的乳腺原位癌组织和 70%的乳腺浸润癌组织中表达下调, 且下调与肿瘤的进展分化有关。他们推断, arh- 基因的表达缺失可能与乳腺癌的转移机制有关。

CpG 岛的异常甲基化存在于乳腺癌细胞中, 不存在于正常的上皮细胞中<sup>[12]</sup>。这说明, 启动子区域的甲基化位点可能抑制 arh- 基因的表达。用去甲基化试剂 zebularine、5-氮杂-2-脱氧胞苷(5-aza-2V-deoxycytidine, 5-aza-2V-dC)可以逆转这种恶性肿瘤的特征<sup>[2]</sup>。

在胰腺癌组织中, arh- 基因的表达率均明显低于正常的胰腺组织。Dalai等<sup>[13]</sup>发现, 在正常的胰腺组织以及高分化和低分化的胰腺肿瘤之间, arh- 基因的表达存在着明显的差异。在低分化的肿瘤中, arh- 基因表达最低, 且低表达

的患者生存期明显缩短。

目前, 国内外关于 arh- 基因与肿瘤间关系的研究主要集中于卵巢癌、乳腺癌和胰腺癌, 在口腔鳞状细胞癌方面研究较少。应用基因疗法使 arh- 基因重新表达正处于探索阶段, 该方面已成为目前研究的热点。

### 4 展望

综上所述, arh- 基因表达缺失或表达下降与 CpG 岛异常甲基化有关, 主要存在于该基因的启动区和编码区。抑制该基因的表达, 可能是肿瘤的发生机制之一。CpG 岛甲基化异常不同于基因突变, 在诱发肿瘤的过程中仅调控基因功能, 并非干扰基因的结构, 因而是可逆转的。对高甲基化的研究, 为去甲基化的药物治疗提供基础。特异性甲基化抑制剂是一项有前景的治疗策略, 但目前仍只停留在基础试验阶段, 尚需进一步的深入探讨。

迄今为止, 关于该基因发生异常的失活机制仍不清楚, 而且其作用途径和调控机制的研究亦还不够深入。

### 5 参考文献

- [1] Yu Y, Xu F, Peng H, et al. NOEY2(ARH ), an imprinted putative tumor suppressor gene in ovarian and breast carcinomas[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(1) 214-219.
- [2] Luo RZ, Peng H, Xu F, et al. Genomic structure and promoter characterization of an imprinted tumor suppressor gene ARH [J]. Biochim Biophys Acta, 2001, 1519 (3) 216-222.
- [3] Lu Z, Luo RZ, Peng H, et al. Transcriptional and post-transcriptional down-regulation of the imprinted tumor suppressor gene ARH (DRAS3) in ovarian cancer[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(8) 2404-2413.
- [4] Yuan J, Luo RZ, Fujii S, et al. Aberrant methylation and silencing of ARH , an imprinted tumor suppressor gene in which the function is lost in breast cancers[J]. Cancer Res, 2003, 63(14) 4174-4180.
- [5] Bao JJ, Le XF, Wang RY, et al. Reexpression of the tumor suppressor gene ARH induces apoptosis in ovarian and breast cancer cells through a caspase-independent calpain-dependent pathway[J]. Cancer Res, 2002, 62(24) : 7264-7272.
- [6] Nishimoto A, Yu Y, Lu Z, et al. A Ras homologue member directly inhibits signal transducers and activators

- cts :Involvement of the ClpP serine protease[J]. Eur J Oral Sci, 2007, 115(5) :363-370.
- [9] Lemos JA, Burne RA. Regulation and physiological significance of ClpC and ClpP in *Streptococcus mutans*[J]. J Bacteriol, 2002, 184(22) :6357-6366.
- [10] Chatteraj P, Banerjee A, Biswas S, et al. ClpP of *Streptococcus mutans* differentially regulates expression of genomic islands, mutacin production, and antibiotic tolerance [J]. J Bacteriol, 2010, 192(5) :1312-1323.
- [11] Kajfasz JK, Martinez AR, Rivera-Ramos I, et al. Role of Clp proteins in expression of virulence properties of *Streptococcus mutans*[J]. J Bacteriol, 2009, 191(7) :2060-2068.
- [12] Kwon HY, Ogunniyi AD, Choi MH, et al. The ClpP protease of *Streptococcus pneumoniae* modulates virulence gene expression and protects against fatal pneumococcal challenge[J]. Infect Immun, 2004, 72(10) :5646-5653.
- [13] 张群, 胥文春, 尹一兵, 等. clpP基因缺陷对肺炎链球菌毒力表达降低的研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(4) :307-310.
- [14] 李岱容, 曹炬, 王虹, 等. 肺炎链球菌候选蛋白质疫苗 ClpP的保守性和抗原性[J]. 第四军医大学学报, 2008, 29(19) :1741-1744.
- [15] de Bruijn I, Raaijmakers JM. Regulation of cyclic lipopeptide biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens* by the ClpP protease[J]. J Bacteriol, 2009, 191(6) :1910-1923.
- [16] 袁军, 陈耀, 曹炬, 等. 肺炎链球菌毒力因子ClpP蛋白酶的体外表达及纯化[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(18) :1753-1755.
- [17] Frees D, Ingmer H. ClpP participates in the degradation of misfolded protein in *Lactococcus lactis*[J]. Mol Microbiol, 1999, 31(1) :79-87.
- [18] Zhang J, Banerjee A, Biswas I. Transcription of clpP is enhanced by a unique tandem repeat sequence in *Streptococcus mutans* [J]. J Bacteriol, 2009, 191(3) :1056-1065.
- [19] Len AC, Harty DW, Jacques NA. Stress-responsive proteins are upregulated in *Streptococcus mutans* during acid tolerance[J]. Microbiology, 2004, 150(Pt 5) :1339-1351.
- [20] Michel A, Agerer F, Hauck CR, et al. Global regulatory impact of ClpP protease of *Staphylococcus aureus* on regulons involved in virulence, oxidative stress response, autolysis, and DNA repair[J]. J Bacteriol, 2006, 188(16) :5783-5796.
- [21] Chatterjee I, Becker P, Grundmeier M, et al. *Staphylococcus aureus* ClpC is required for stress resistance, acetylase activity, growth recovery, and death[J]. J Bacteriol, 2005, 187(13) :4488-4496.
- [22] Frees D, Chastanet A, Qazi S, et al. Clp ATPases are required for stress tolerance, intracellular replication and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*[J]. Mol Microbiol, 2004, 54(5) :1445-1462.
- [23] 黄晓晶, 邱明, 江一平. 变异链球菌生物膜成熟初期蛋白质表达分析[J]. 中华口腔医学研究杂志 :电子版, 2008, 2(5) :445-451.
- [24] Derrien B, Majeran W, Wollman FA, et al. Multistep processing of an insertion sequence in an essential subunit of the chloroplast ClpP complex[J]. J Biol Chem, 2009, 284(23) :15408-15415.
- [25] Bewley MC, Graziano V, Griffin K, et al. Turned on for degradation :ATPase-independent degradation by ClpP[J]. J Struct Biol, 2009, 165(2) :118-125.
- [26] 陆玉, 刘天佳, 杨锦波. 变异链球菌gtfs在不同pH条件下表达的差异性[J]. 华西口腔医学杂志, 2008, 26(6) :667-669.
- [27] 张立恒, 孙涛生, 邹宏亮, 等. 口腔龋坏组织中变异链球菌与乳酸杆菌的作用研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2009, 27(6) :657-659.

(本文编辑 刘世平)

(上接第225页)

- of transcription 3 translocation and activity in human breast and ovarian cancer cells[J]. Cancer Res, 2005, 65(15) :6701-6710.
- [7] 卢朝晖, 陈杰, 谷丽君, 等. ARH 在胰腺癌组织中 mRNA水平及蛋白表达[J]. 中国医学科学院学报, 2001, 23(4) :324-327.
- [8] 汪淑娟, 李亚里, 蒋红清. 新抑癌基因ARH 在子宫内膜异位症中的表达及其意义[J]. 现代妇产科进展, 2006, 15(11) :851-853.
- [9] Feng W, Marquez RT, Lu Z, et al. Imprinted tumor suppressor genes ARH and PEG3 are the most frequently down-regulated in human ovarian cancers by loss of heterozygosity and promoter methylation[J]. Cancer, 2008, 112(7) :1489-1502.
- [10] Bao JJ, Le XF, Wang RY, et al. Reexpression of the tumor suppressor gene ARH induces apoptosis in ovarian and breast cancer cells through a caspase-independent calpain-dependent pathway[J]. Cancer Res, 2002, 62(24) :7264-7272.
- [11] Wang L, Hoque A, Luo RZ, et al. Loss of the expression of the tumor suppressor gene ARH is associated with progression of breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(10 Pt 1) :3660-3666.
- [12] Zlatev R, Magnin JP, Ozil P, et al. Bacterial sensors based on *Acidithiobacillus ferrooxidans* Part . Cr( ) determination[J]. Biosens Bioelectron, 2006, 21(8) :1501-1506.
- [13] Dalai I, Missiaglia E, Barbi S, et al. Low expression of ARH is associated with shorter progression-free survival in pancreatic endocrine tumors[J]. Neoplasia, 2007, 9(3) :181-183.

(本文编辑 刘世平)