

微型述评

肿瘤中 *neu* 基因的过量表达及其抑制

龚海彪 张惟杰 徐晋麟

(上海交通大学生物科学与技术系, 上海 200240)

摘要 *neu* 基因编码一种和表皮生长因子受体同源的磷酸蛋白, 具有酪氨酸激酶的活性. 近年来在多种人类肿瘤中发现 *neu* 基因的扩增和 (或) 过量表达. 一些蛋白质因子或化学药物可以在转录水平阻遏 *neu* 基因的过量表达或者降低其产物 p185^{neu} 的酪氨酸激酶活性, 抑制具有 *neu* 基因过量表达的癌细胞的转移和增殖.

关键词 *neu* 基因, p185^{neu} 蛋白, 过量表达, 肿瘤

学科分类号 Q75

1 *neu* 基因及其与细胞癌变的关系

neu 基因, 最早从大鼠神经母细胞瘤 (neuroblastoma) 中分离到, 它编码分子质量为 185 ku 的跨膜蛋白 p185^{neu}, 是生长因子受体 (EGFR) 家族的成员之一. 人类体细胞内 *neu* 基因的同源基因, 又称为 HER-2 (human EGF receptor-2) 或 erbB-2 位于 17 号染色体长臂 (17q12-21.32), 其蛋白质产物和大鼠相比有 89% 同源性, 并具有相似的表达水平和组织分布.

p185^{neu} 可分为三个结构域: 一个大的细胞外糖基化结构域 (包括配基结合位点和两个富半胱氨酸区); 一个疏水的跨膜区 (TM 区); 以及胞内的一个酪氨酸激酶相关区, 具有酪氨酸激酶活性, 并可以催化自身酪氨酸磷酸化^[1]. 在胞外信号分子 (配基) 的作用下, p185^{neu} 和其他 EGFR 家族成员可形成二聚体, 从而使激酶相关区装配成有效的信传状态.

用 N-亚硝基-N-乙基脒 (ENU) 可以诱导大鼠或仓鼠 *neu* 基因在跨膜区发生点突变, 使密码子 GTG 变为 GAG (相应氨基酸由 Val 变为 Glu), 突变位点在大鼠中为 664 密码子,

仓鼠中为 658 或 659 密码子, 这个点突变可以使 p185^{neu} 的酪氨酸激酶活性显著增强. 人体细胞 *neu* 基因中还未检测到有类似的突变, 但其过量表达 (这使细胞中 p185^{neu} 水平增高) 在肿瘤中却极为普遍^[1], 很多还伴有 *neu* 基因的扩增及 17 号染色体拷贝数的增加. 细胞中 *neu* 基因的高水平表达及 p185^{neu} 的酪氨酸激酶活性增强与人类肿瘤的恶化及癌细胞的转移有很大关系.

在多种癌细胞 (如乳腺、卵巢、子宫、子宫颈、前列腺、肺、十二指肠、胃、胰、鼻咽、唾液腺等的癌变细胞) 中发现有 *neu* 基因的扩增和 (或) 过量表达, 这样的癌症患者, 癌恶化程度高, 转移潜力强, 对化学治疗药物具有较强抗性, 治疗效果也差. 这一现象在女性和雌激素有关的癌 (如乳腺癌、卵巢癌、子宫癌) 中研究得最多. 研究发现: 约 30% 的乳腺癌、卵巢癌中有 *neu* 基因的扩增和 (或) 过量表达.

动物实验证明, *neu* 基因点突变后的表达产物 (称为 Neu^T) 酪氨酸激酶活性明显增高, 可以激活一系列与信号传递有关的组分, 包括

卵磷脂酶 C_v、磷脂酰肌醇 3'-激酶、Scr、Shc 和 Grb2/SOS, 还有 Ras 信号途径组分, 有丝分裂素激活蛋白激酶 (MAK) 等; 它还能使很多转录因子的活性增强, 如 Ets, AP-1, NF- κ B 等.

可是, 人类肿瘤中多为正常 *neu* 基因的扩增或过量表达. 而未突变的 p185^{neu} 对上述蛋白质因子并没有明显的激活作用. 看来, *neu* 基因过量表达所诱导的癌变机理还有待进一步研究.

2 *neu* 基因的转录调控因子

对 *neu* 基因过量表达的关注, 促进了对 *neu* 基因转录调控因子的研究.

Rb (视网膜母细胞瘤) 基因是一种常见的肿瘤抑制基因, 它编码一个 105 ku 的核内磷蛋白 RB. 在 NIH3T3 细胞中它可以通过阻遏 *neu* 基因的转录来抑制 *neu* 基因诱导的转化作用. 腺病毒 5 的 E1A 基因产物也可以阻遏 *neu* 基因的过量表达, 从而抑制其致癌性. 有意思的是: 一些 DNA 肿瘤病毒蛋白, 如腺病毒 E1A 蛋白、SV40 大 T 抗原、其他一些乳多空病毒 T 抗原、以及人乳头瘤病毒 E7 蛋白可以结合到 RB 的 379~ 792 残基区域并使其肿瘤抑制活性丧失. 在 Rat-1 细胞中, RB 不仅不能阻遏 *neu* 基因转录, 而且拮抗 E1A 的转录阻遏作用 (脱阻遏). 进一步的研究指出, RB 蛋白的 E1A 结合区和 C 端对于其脱阻遏是必需的, 而 N 端的缺失似乎关系不大^[4]. 可见 Rb 对 *neu* 基因的转录调控是有细胞特异性的, 对于不同的细胞, 其调节可以是正, 也可以是负. 已有人提出一个模型, 试着解释 RB 蛋白、E1A 蛋白在调节 *neu* 基因表达中的相互作用^[4].

另外一种能在转录水平调控 *neu* 基因表达的因子是雌激素受体 (ER). 很多 *neu* 基因过量表达的人类乳腺癌中同时伴有 ER 的缺失或功能丧失. 用人类乳腺癌细胞系体外实验证明: ER 的确能对 *neu* 基因的表达起调控作用, 这可以在 mRNA 水平被检测到: 在雌二

醇存在的条件下, ER⁺ 细胞中 *neu* 基因转录 mRNA 水平显著低于 ER⁻ 细胞, p185^{neu} 蛋白的水平也有相应变化. 用 NIH3T3 小鼠成纤维细胞和 CV-1 猴成纤维细胞系作为转染受体进一步研究发现: ER 对 *neu* 基因的转录阻遏还依赖于雌激素或外加雌二醇的存在, 也就是说雌激素 (或雌二醇) 活化的 ER 阻遏 *neu* 基因的转录. 其作用位点是存在于 *neu* 启动子中的一个 140 bp 区域^[2].

3 可能的相关治疗手段

与引起 *neu* 基因扩增和 (或) 过量表达的原因相对应, 以 *neu* 基因作为目标的肿瘤治疗可以采取以下一些方法: a. 将反义寡核苷酸导入细胞以使部分 *neu* 基因失活; b. 通过一些蛋白质因子的作用在转录水平阻遏 *neu* 基因表达; c. 用抗体或其他配体和 p185^{neu} 结合使部分 p185^{neu} 失去或降低活性. 有人用阳离子脂质体 DG-cho1 作为载体将腺病毒 5 的 E1A 基因导入有 *neu* 基因过量表达的小鼠肿瘤细胞中, 发现有明显的治疗效果. 这就是因为 E1A 基因产物能在转录水平阻遏 *neu* 基因的表达^[5].

一些可以降低蛋白酪氨酸磷酸化水平的物质, 如大黄素 (Emodin, 它可以抑制酪氨酸激酶活性)、AG825 (一种选择性酪氨酸激酶抑制剂, 可优先抑制 p185^{neu} 活性)、或蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTPase, 它可以使酪氨酸已磷酸化的蛋白质去磷酸), 也可以有效抑制有 p185^{neu} 过量表达的致癌细胞的增殖以及肿瘤的生长. 这和本文前面提到的 p185^{neu} 酪氨酸激酶活性过高是细胞致癌的重要原因的观点是一致的.

参 考 文 献

- 1 Nakamura T, Ushijima T, Ishizaka Y *et al.* Cloning and activation of the syrian hamster *neu* protooncogene. *Gene*, 1994, **140** (2): 251~ 255
- 2 Russell S K, Hung M C. Transcriptional repression of the *neu* protooncogene by estrogen stimulated estrogen receptor. *Cancer Res*, 1992, **52** (23): 6624~ 6629
- 3 Galang C K, Garcia R J, Soliski P A *et al.* Oncogenic Neu/

ErbB-2 increases ets, AP-1, and NF- κ B-dependent gene expression, and inhibiting Ets activation blocks Neu-mediated cellular transformation. *J Biol Chem*, 1996, **271** (14): 7992~ 7998

4 Yu D, Matin A, Hinds P W *et al.* Transcriptional regulation of neu by RB and E1A in Rat-1 cells. *Cell Growth Diff*, 1994, **5** (4): 431~ 438

5 Yu D, Matin A, Xia W *et al.* Liposome-mediated *in vivo* E1A gene transfer suppressed dissemination of ovarian cancer cells that overexpress HER-2/ neu. *Oncogene*, 1995, **11** (7): 1383~ 1388

Overexpression and Suppression of *neu* Gene in Human Cancers. GONG Hai-biao, ZHANG Wei-jie, XU Jin-lin (*Department of Biological Science and Technology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China*).

Abstract The *neu* gene is known to encode a PTK-activity-bearing phosphoprotein which is one of the homologous proteins of epidermal growth factor receptor (EGFR). Amplification and (or) overexpression of *neu* gene have been found in various human cancers recently. Some protein factors and chemical agents can suppress *neu* gene transcription or reduce the PTK activity of p185^{neu}, resulting in the inhibition of metastasis and proliferation of cancer cells with *neu* overexpression.

Key words *neu* gene, p185^{neu}, overexpression, tumor

缺氧诱导因子 1

张继峰 陈光慧 汤 健

(北京医科大学心血管基础研究所, 北京 100083)

摘要 缺氧诱导因子 1 是缺氧诱导细胞所产生的一种蛋白质, 由一个 120 ku 的 α 亚基和一个 91~ 94 ku 的 β 亚基组成的异源二聚体. 在缺氧条件下, 促进红细胞生成素和糖酵解酶等基因的转录和表达, 维持机体氧稳态.

关键词 缺氧, 缺氧诱导因子 1, 转录因子

学科分类号 Q7

氧是机体新陈代谢和维持生存的必要因素. 在某些生理或病理条件下, 整体或局部缺氧能引起机体出现一系列适应性反应, 如红细胞生成素 (erythropoietin, EPO)、血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelium growth factor, VEGF) 合成分泌增加, 糖酵解途径酶的合成等. 这些反应同缺氧诱导细胞产生的一种蛋白质- 缺氧诱导因子 1 (hypoxia inducible factor 1, HIF₁) 有关, 它可调节一系列基因的转录和表达, 以维持机体的正常代谢和功能.

1 HIF₁ 的发现及其 cDNA 的克隆

HIF₁ 是在研究缺氧诱导的 EPO 基因表达

时发现的^[1]. Semenza 等将人肝癌 Hep3B 细胞用 1% 低氧处理, 细胞内 EPO mRNA 可增加 50 倍, 而且缺氧处理过的细胞, 其细胞核提取物也具有促进 EPO 基因转录的作用, 但预先给予蛋白合成抑制剂能阻断缺氧对 EPO 基因表达的诱导作用. 因而提出, 缺氧可以诱导细胞产生某种新的蛋白质, 调节基因的表达, 这种物质被称为 HIF₁. Wang 等分别从培养的 Hep3B 和 HeLa S3 细胞中提纯了 HIF₁, 后者主要以异源二聚体的形式存在, 由 120 ku 的 α 亚单位 (HIF_{1 α}) 和 91~ 94 ku 的 β 亚单位 (HIF_{1 β}) 组成. 随之 Wang 等从 Hep3B 细胞

收稿日期: 1997-09-03, 修回日期: 1998-01-07