

• 综述 •

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2018.10.02

上调基因 4 与癌症

林昊龙¹⁾, 袁萍²⁾, 孙军^{2)*}

(¹⁾ 华中科技大学同济医学院基础医学院临床医学八年制 2014 级, 武汉 430030;

²⁾ 华中科技大学同济医学院基础医学院生物化学与分子生物学学系, 武汉 430030)

摘要 上调基因 4 (up-regulated gene-4, URG4) 是受乙肝病毒 X 蛋白 (hepatitis B virus X protein, HBx) 激活的下游基因之一, 最初在转染 HBx 的 HepG2 细胞中被克隆, 因其上调细胞增殖效应而得名。研究发现, URG4 在 HBx 转染后的 HepG2 细胞中表达明显增加, 同时细胞生长加速, 存活率提高, 表明 URG4 与乙肝病毒相关的肝细胞癌发生可能相关。近年来, 人们发现 URG4 不仅在肝癌细胞中高表达, 还与胃癌、骨肉瘤、非小细胞肺癌、神经母细胞瘤等多种癌症相关。本文结合近年来对 URG4 的研究成果, 包括 URG4 基因及其蛋白质的结构与功能, URG4 在癌症发生发展中的作用, 以及在癌症早期诊断和预后中的意义进行综述, 可望为后续深入开展 URG4 与癌症的研究提供参考。

关键词 上调基因 4; 癌症; 分子结构; 乙肝病毒 X 蛋白

中图分类号 Q291; Q71

Up-regulated Gene-4 (URG4) in Cancers

LIN Hao-Long¹⁾, YUAN Ping²⁾, SUN Jun^{2)*}

(¹⁾ 2014 Grade, Eight-year Program of Clinical Medicine, School of Basic Medicine,

Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China;

²⁾ Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract Up-regulated gene-4 (URG4) is one of the target genes activated by the transcription factor, hepatitis B virus X protein (HBx). It was firstly cloned in HBx-transfected HepG2 cells and named after its effect on up-regulating cell proliferation. The expression of URG4 extremely increased in the HBx-transfected HepG2 cells. Moreover, the cellular growth and survival rates were promoted, which suggested that URG4 might be relevant to the carcinogenesis of HBV-related hepatocellular carcinoma. In recent years, it was found that URG4 was not only highly expressed in hepatocellular carcinoma, but also involved in multiple cancers, such as gastric cancer, osteosarcoma, non-small cell lung cancer and neuroblastoma, etc. In this review, we summarize the recent advance in research on URG4, including the structure of the URG4 gene and its protein, roles of URG4 in carcinogenesis, and the significance of URG4 in early diagnosis and prognosis of cancers. We aim to provide a reference for the future research of URG4 in cancer.

Key words up-regulated gene-4 (URG4); cancer; molecular structure; hepatitis B virus X protein (HBx)

收稿日期: 2018-03-26; 修回日期: 2018-06-14; 接受日期: 2018-06-26

国家自然科学基金 (No. 81472833) 和华中科技大学 2017 年大学生创新创业训练计划 (No. JCYXY17073) 资助

* 通讯作者 Tel: 027-83692357; E-mail: tjsunjun@qq.com

Received: March 26, 2018; Revised: June 14, 2018; Accepted: June 26, 2018

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81472833) and Huazhong University of Science and Technology College Students' Innovative Entrepreneurial Training Program in 2017 (No. JCYXY17073)

* Corresponding author Tel: 027-83692357; E-mail: tjsunjun@qq.com

上调基因 4 (up-regulated gene-4, URG4) 是乙肝病毒 X 蛋白 (hepatitis B virus X protein, HBx) 作为反式激活因子所促进转录的下游基因之一, 因可上调细胞增殖而得名。2002 年, Tufan 等^[1] 为探索肝癌发生的分子机制, 运用抑制消减杂交和差异 PCR 比较 HBx 转染细胞与对照细胞中差异表达的分子, 成功克隆出了一组与 HBx 相关的分子, 包括 URG4、URG7、URG11、URG12 和 URG19 等, 其中 URG4 与调节细胞周期相关, 是 HBx 蛋白的效应元件之一, 参与乙肝病毒诱导的肝癌发生。后来, 相继发现 URG4 在胃癌^[2, 3]、神经母细胞瘤^[4-7]、骨肉瘤^[8]、非小细胞肺癌^[9] 和膀胱癌^[10] 等多种癌症中均表达增强, 主要表现为加快细胞周期、促进肿瘤细胞生长和侵袭的生物学功能^[2], 并与化疗药物的抵抗相关^[10], 与癌症的发展和预后有密切的联系。本文将简要介绍 URG4 基因及其蛋白质的结构和基因表达, 重点阐述与其相关的信号通路, 和在癌症发生发展中的作用, 以及在临床诊断、治疗中的应用。

1 上调基因 4 的结构和表达

1.1 URG4 的结构

人 URG4 基因位于 7 号染色体短臂 1 区 3 带

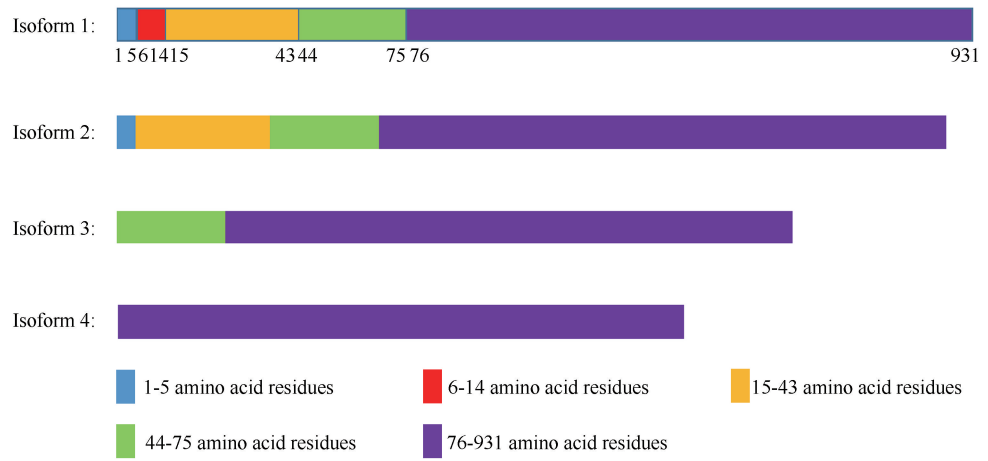


Fig. 1 The patterns of four isoforms of the URG4 protein The data are from the UniPort database. The isoform 1 consists of 931 amino acid residues. The isoform 2 consists of 922 amino acid residues by deleting 6-14 amino acid residues of the isoform 1. The isoform 3 consists of 888 amino acid residues by deleting 1- 43 amino acid residues of the isoform 1. The isoform4 consists of 856 amino acid residues by deleting 1-75 amino acid residues of the isoform 1

1.2 URG4 的表达

1.2.1 URG4 的表达分布 含 922 个氨基酸残基的 URG4 异构体只在人细胞中表达^[1, 13], 而 931 个氨基酸的异构体在人和黑猩猩体内存在, 剩余两种异构体尚未在生物体内证实^[13]。经过 RNA 探针、

(7p13), 全长 50 518 bp。其中, 编码区含 3 607 bp, 包括 8 个外显子和 7 个内含子^[11]。在非编码区, URG4 的启动子全长 545 bp (包括转录起始点上游 482 bp 和转录起始点下游 63 bp), 内有 10 个 CpG 岛 (CpG island)^[12]。此外, 还有 22 个增强子, 共同参与 URG4 的基因表达调控。URG4 基因易突变, 在对 URG4 的单核苷酸多态性分析中发现, URG4 有 5 892 种突变序列, 其中约 35% 是致病的。到目前为止, 未发现和 URG4 基因序列相似性大于 90% 的基因^[11]。

在 UniPort 数据库中检索发现^[13], URG4 蛋白有 4 种同源异构体 (isoforms) (见 Fig. 1), 最长的含有 931 个氨基酸残基, 分子质量约为 105 kD, 等电点为 6。经过选择性剪接后形成其他 3 种: 分别含有 922 (6 ~ 14 氨基酸残基缺失) 个氨基酸残基, 分子质量约为 104 kD; 888 (1 ~ 43 氨基酸残基缺失) 个氨基酸残基, 分子质量约为 100 kD, 和 856 (1 ~ 75 氨基酸残基缺失) 个氨基酸残基, 分子质量约为 97 kD。在每种蛋白质构型中^[2], 有以下结构域: 1 个穿膜螺旋 (transmembrane helices), WLQFKLLTEISSAVFILT; 3 个核内信号定位肽 (nuclear localization signals), 分别为 PYRGKRN、PRPRDKR 和 PRDKRQL; 1 个 ATP/GTP 结合区 (ATP/GTP binding site) 为 GVPGTGKS。

微阵列和基因表达系列分析发现, 在未受乙肝病毒感染的正常人中, URG4 基因在全身大部分器官都转录 mRNA, 也翻译微量的蛋白质 (10⁻² ppm), 只在 CD8⁺ T 细胞、胰腺、前列腺、胎盘和睾丸等少数器官中蛋白质较多 (10⁻¹ ppm)。绝大多数 URG4 蛋白在

细胞质中表达,偶尔在细胞核内可见^[11]。

1.2.2 URG4 在转录水平表达调节 URG4 的表达调控主要在转录水平,主要受到 DNA 甲基化、转录因子和药物的调节。

URG4 基因甲基化抑制自身的表达。在 URG4 基因的启动子中富含 GC 框(GC box),内有多个 CpG 岛,与基因的转录活性密切相关。转录因子特异蛋白 1(specific protein 1, Sp1)是一种调节启动子活性的基本转录因子,通过与富含 GC 的启动子序列结合来促进转录。CpG 岛甲基化抑制 Sp1 与自身的结合,进而遏制 URG4 表达^[12]。

在 GeneCard 数据库中收录了近 200 个可与 URG4 启动子结合的转录因子,比如 Kruppel Like Factor 9(KLF9)通过 GC 框对转录发挥双向调节作用,当 KLF9 与单个 GC 框结合后抑制 mRNA 转录,而与连续多个 GC 框结合后却促进 mRNA 转录^[14]。HBx 是最早发现的 URG4 转录因子。Tokay 等^[15]研究发现,转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)既能促进 URG4 表达,也是 URG4 的效应分子之一。通过瞬时转染发现,在 URG4 启动子-109 到 +63 间,有微小的 TGF- β 1 反应元件。在肝癌细胞中,TGF- β 1 可显著提高 URG4 的 mRNA 和蛋白质表达水平。该过程是通过丝裂原激活的蛋白激酶/细胞外信号调节激酶的激酶(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal regulated kinase 1, MAPK/ERK kinase 1 或 MEK1)和磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)途径完成的。使用 MEK1 抑制剂 PD98059 和 PI3K 抑制剂渥曼青霉素(wortmannin)能阻断 TGF- β 1 对 URG4 表达的上调作用。

研究发现,有些药物可在转录水平调节 URG4 的表达。维甲酸(retinoic acid)与其细胞内维甲酸类 X 受体 β (retinoid X receptor beta, RXRB)结合后,受体二聚化形成同源二聚体,作用于 URG4 基因的启动子上,影响其转录功能和 DNA 结合能力。Dodurga 等^[4]研究发现,维甲酸能下调 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞中 URG4 基因的表达。其他药物,如雷帕霉素(rapamycin, RPM)^[16]、丙戊酸(valproic acid)^[5]和亚硫酸盐^[6]均可抑制不同肿瘤细胞中 URG4 基因的表达。

1.2.3 URG4 在翻译水平表达调节 在翻译水平, URG4 主要受微 RNA(microRNA, miRNA)的调控。微 RNA 是一类可调控基因表达的非编码 RNA 家族,为 20~22 nt 的单链 RNA 分子,能通过

与 mRNA 相互作用,以阻遏蛋白质翻译或使 mRNA 降解。研究发现,在鼻咽癌细胞中,miR-519 直接与 URG4 的 3'端非翻译区结合,抑制 URG4 的表达,进而抑制细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)的表达和视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein, Rb)的磷酸化水平,阻遏细胞周期,抑制鼻咽癌的发生^[17]。

2 上调基因 4 与癌症

研究发现,URG4 通过调控细胞周期、细胞凋亡和细胞分化,尤其能够通过控制核转录因子- κ B(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)信号通路,对癌症的发生发展和预后产生重大的影响。

2.1 URG4 调控细胞周期

在几乎所有高表达 URG4 的癌细胞中,URG4 都通过调节细胞周期蛋白来调控细胞的生长。 G_1 /S 期的调控是细胞周期中最重要的检查点。 G_1 期的细胞周期蛋白主要有周期蛋白 C、D、E 三种,且以周期蛋白 D1 起主要作用。URG4 正是通过上调周期蛋白 D1 来促进细胞生长。

在肝细胞癌中,URG4 使 Akt 磷酸化,Akt 进一步使叉头转录因子 O 亚型 3(forkhead box O3, FOXO3)磷酸化程度增加,后者磷酸化失活。FOXO3 作为转录因子调节 p27^{Kip1} 和 p21^{Cip1} 转录, p27^{Kip1} 和 p21^{Cip1} 是细胞周期蛋白激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)抑制物,可抑制周期蛋白 D1 的表达。因此,肝细胞癌中 URG4 上调后, p27^{Kip1} 和 p21^{Cip1} 减少,周期蛋白 D1 的表达增加,使肝癌细胞快速进入 S 期,进而加速细胞的生长增殖^[18]。

过表达 URG4 亦能上调周期蛋白 D1 促进胃癌细胞增殖和成瘤。增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)与细胞 DNA 合成关系密切,在 G_1 期和 S 期表达最多,能反映细胞的增殖状态,因此是肿瘤的增殖标志物之一^[19]。PCNA 指数与胃癌组织中 URG4 的表达量成正相关,说明高表达 URG4 的胃癌细胞增殖更快。当用 siRNA 抑制 MNK28 和 SGC7901 两种胃癌细胞中 URG4 的表达后发现, G_1 期细胞比例增加, S 期细胞比例减少,两种细胞平板克隆形成能力、软琼脂克隆形成能力和裸鼠体内成瘤能力均降低^[3]。

神经母细胞瘤是最常见的儿童颅外实体恶性肿瘤,多起源于交感神经系统的神经细胞。URG4 在神经母细胞瘤中也表达增加,并与其增殖、分化和凋亡相关。虽然目前没有找到神经母细胞瘤中 URG4 调节细胞周期的直接通路,但有研究证明,多种药物

可通过影响 URG4 的表达来干扰神经母细胞瘤细胞的生长活性,而这一过程都伴随着细胞周期蛋白的变化。替莫唑胺 (temozolomide) 是一种 DNA 烷化剂,可以用来治疗恶性胶质瘤、成神经管细胞瘤和高级星形细胞瘤等多种神经系统肿瘤。有研究发现,替莫唑胺可明显抑制 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞系中 URG4 基因、细胞周期蛋白 D1 基因 (cyclin D1, CCND1)、细胞周期蛋白 D2 基因 (cyclin D2, CCND2)、CDK4 基因和 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因 (B cell lymphoma/leukemia-2, bcl-2) 等基因的表达,产生细胞周期停滞、抑制细胞增殖、促进细胞凋亡的作用^[7]。在肿瘤细胞侵袭试验和平板克隆形成试验中,替莫唑胺能够抑制肿瘤细胞侵袭和集落形成。

前列腺癌是死亡率最高的男性肿瘤之一。URG4 蛋白在正常前列腺中有微量表达,在前列腺癌中表达增加,同样通过上调周期蛋白 D1 来促进细胞增殖。雷帕霉素因可以抑制细胞由 G₁ 期至 S 期的进程,从而发挥免疫抑制效应,常作为免疫抑制剂用于器官移植。有研究发现,雷帕霉素通过多种途径发挥抗癌作用:下调低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)、Bcl-2 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等凋亡抑制因子,上调 B 细胞淋巴瘤/白血病-xL (B cell lymphoma/leukemia-xL gene, Bcl-xL)、天冬氨酸蛋白水解酶 3 (cysteiny l aspartate specific proteinase-3, caspase-3) 等凋亡相关蛋白,促进肿瘤细胞凋亡^[20,21]。在不同的前列腺癌细胞中,雷帕霉素对 URG4 基因的作用不同。对雄激素抵抗型的前列腺癌 DU145 和 PC3 细胞系,雷帕霉素下调 URG4 基因的表达,进而抑制周期蛋白 D1 表达,抑制细胞周期有 G₁ 期向 S 期转换,抑制细胞生长。对雄激素依赖型的前列腺癌 LNCAP 细胞系,雷帕霉素上调 URG4 和周期蛋白 D1 的表达,以促进细胞生长^[16]。

2.2 URG4 与细胞凋亡

在癌细胞中,URG4 能通过抑制凋亡蛋白表达、促进抗凋亡蛋白表达,来发挥促增殖、抗凋亡的作用。

在神经母细胞瘤中,用不同剂量的亚硫酸盐处理 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞,发现在下调 URG4 基因的同时,bcl-2、CCND1、CCND2、CDK4、CDK6 和 E2F 转录因子 4 (E2F transcription factor 4, E2F4) 等抗凋亡基因显著下调,而 bcl-2 相关 X 蛋白 (bcl-2 associated X protein, bax)、BH3 相互作用结构域死亡

激动剂 (BH3 interacting domain death agonist, bid)、视网膜母细胞瘤基因 1 (retinoblastoma gene 1, Rb1)、肿瘤抑制蛋白 (Tumor protein p53, Tp53)、半胱天冬氨酸酶 2 基因 (caspase 2 gene, CASP2)、半胱天冬氨酸酶 3 基因 (caspase 3 gene, CASP3)、半胱天冬氨酸酶 9 基因 (caspase 9 gene, CASP9) 和线粒体衍生半胱氨酸蛋白酶激活剂 (diablo IAP-binding mitochondrial protein, DIABLO 或 Smac) 等促凋亡基因表达增加,共同抑制细胞增殖,并且亚硫酸盐同样表现出抗侵袭和抑制集落形成的能力^[6]。

在人类甲状腺癌 TT 细胞系中,用阿魏酸 (ferulic acid) 能抑制 URG4 基因后,bcl-2、CCND1、CDK4、CDK6、基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloprotein 2, MMP-2) 和基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloprotein 9, MMP-9) 等与细胞生长、迁移的基因表达随之减少,p53 及其两个靶基因 PUMA 和 NOXA,以及 bax、bid、CASP3、CASP9、聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 [poly (ADP-ribose) polymerase, PARP] 和基质金属蛋白酶组织抑制因子 1 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1, TIMP1) 等与 DNA 损伤和凋亡相关的基因表达增加,抑制肿瘤细胞的生长和集落形成^[22]。

在结肠癌中,URG4 表达明显增加^[23]。有研究表明,URG4 与极性多泡体蛋白 5 (charged multivesicular body protein 5, CHMP5) 结合,影响内吞体分选转运复合体 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 的形成,间接抑制多泡体 (multivesicular bodies, MVBs) 的形成,继而抑制表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 的降解及灭活,在促进细胞增殖、局部侵袭和淋巴结浸润方面均起重要的作用^[19]。

同样,在膀胱癌细胞中发现,上调 URG4 后,Bcl-2、生存素 (Survivin)、髓细胞白血病因子-1 (myelocytic leukemia factor-1, Mcl-1) 和凋亡抑制蛋白 (FLICE inhibitory protein, FLIP) 等抗凋亡蛋白的表达明显增加,而凋亡蛋白半胱天冬氨酸酶 3 表达减少^[10]。

2.3 URG4 与细胞分化

URG4 在不同分化程度的细胞中,表达量不同。用免疫组化等方法检测 100 例胃癌及癌旁对照组织发现,URG4 在胃癌组织中表达的阳性率高达 65%,显著高于癌旁组织中的 30%。并且 URG4 在高分化和中分化胃癌组织中的表达,较低分化胃癌组织明显增高。在不同分化水平的胃癌细胞中也有同样

的结果:在高分化的胃癌细胞系 MKN28 和中分化的胃癌细胞系 SGC7901 中,URG4 的 mRNA 和蛋白质均有较高的表达。但在低分化的胃癌细胞系,如 BGC823、MKN45 和 AGS 中,URG4 表达量较低,在 GES-1 细胞系中表达量最低^[2]。此外,维甲酸在抑制神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞系中 URG4 表达的同时,还促进细胞长出突起结构,诱导细胞分化,说明 URG4 基因参与调节癌细胞的分化状态^[4, 24]。

2.4 URG4 与 NF-κB 通路

NF-κB 信号通路在肿瘤增殖、转移和血管形成等过程中扮演着重要角色。主要表现在通过诱导促增殖蛋白质、抑制促凋亡蛋白质调节细胞增殖。通过调节血管生成促进因子和抑制因子调节血管生成。通过调节细胞粘附分子参与癌细胞扩散和转移^[25],并且能改变肿瘤的能量代谢^[25, 26]。在很多癌症中,URG4 能通过调节 NF-κB 信号通路来发挥功能。

在肝癌细胞系 QGY7703 和 Hep3B 中,URG4 能通过促进 NF-κB 转录,增强 NF-κB 转录和 IκB 激酶 (IκB kinase, IKK)、NF-κB 抑制蛋白 α (inhibitor of NF-κB, IκBα) 的磷酸化程度,促进 NF-κB 的活化,进而促进微血管形成^[25]。

在 LN229、U87、LN308、A172、T98、U251 及 SNB19 等胶质瘤细胞中,URG4 表达都有显著上调,且常和神经干细胞表面标志物 A2B5 共表达^[27]。URG4 通过促进 NF-κB/ c-myc/miR-16/Cyclin D1/E1 通路,即 URG4 通过促进 NF-κB 的转录和 IκBα 的磷酸化,促进 NF-κB 的信号通路,间接促进 c-myc 的转录,继而抑制 miR-16,使 miR-16 对周期蛋白 D1 和周期蛋白 E1 的抑制作用减弱,从而加速胶质瘤细胞的生长^[28]。

在膀胱癌细胞中,URG4 表达上调。分离细胞核与细胞浆后发现,NF-κB 的活性亚基 p65 在细胞核内分布增加,NF-κB 的下游基因 *bcl-2*、*CCND1*、*MMP-9* 和 *VEGF* 表达均上调。由此证明,URG4 是通过 NF-κB 来产生促增殖、转移和抗化疗药等生物学性状的^[10]。

Table 1 The sensitivity and specificity of antibodies of five proteins induced by HBx, and the four biomarkers (AFP, AFL-L3, GPC3 and GP73), as well as the combination of antibodies and one of the four biomarkers in diagnoses of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma^[33]

	Anti-URGs	AFP	AFL-L3	GPC3	GP73	Anti-URGs combined with another biomarker from the four on the left
Sensitivity	58.3%	<50%	<50%	<50%	<50%	75%
Specificity	80%	/	/	/	/	≈80%

在 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞系中,丙戊酸也能在下调 URG4、上调 p65、抑制 CCND1 表达的同时,使 NF-κB 被乙酰化失活,组蛋白的去乙酰化受到抑制,由此发挥抗增殖、促凋亡、抑制肿瘤血管形成等作用^[5]。

在非小细胞肺癌中,URG4 通过 NF-κB 通路增强 MMP-9 表达,使肿瘤组织细胞外基质降解,肿瘤细胞转移^[9]。

3 上调基因 4 与临床应用

3.1 URG4 与肝疾病的早期诊断

目前,临床上广泛采用甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP) 做为确诊为肝癌的标志物。但因其敏感性、特异性均未达到要求,常有漏诊或误诊发生。因此,需要寻找更高效便捷的方法和更精确敏感的标志物来打破当前的困境。有研究发现,血清中 5 种 HBx 诱导的蛋白质 (URG4、URG7、URG11、S15a 和 Sui1) 的抗体种类和数量,与肝炎发展成肝硬化、肝癌的进程密切相关^[29]。在肝炎早期上述抗体即出现,要比 AFP 或核磁共振确诊早几个月甚至一年以上。随病程进展,抗体的种类和数量逐渐增加。在正常人的血清中,超过 85% 的人上述抗体不超过一种^[30],3 种以上抗体同时阳性者只有 0.95%^[31]。在乙肝病毒感染后的肝炎、肝硬化及肝癌患者血清中,3 种或 3 种以上抗体阳性的比例分别为 19.0%、29.2% 和 52.6%^[32]。

以 3 种及 3 种以上抗体阳性作为指标诊断肝硬化和肝癌,灵敏度为 58.3%,特异性高达 80.0%,而单独使用 AFP、甲胎蛋白异质体 3 (AFP-L3)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 (glypican 3, GPC3) 及高尔基体蛋白 73 (golgi body protein 73, GP73) 等生物指标灵敏度均小于 50%。若将抗体和 AFP、AFP-L3、GPC3 及 GP73 中的一种联合诊断,灵敏度将升高到 75%,而特异度仍维持在 80% 左右^[33] (见 Table 1)。以上结果提示,这些 HBx 诱导蛋白质的抗体具备作为理想生物标志物的潜力,为肝疾病的筛查预警、早期诊断和转归预后提供重要的参考依据。

3.2 URG4 与肿瘤的治疗和预后判断

总的来说,URG4 在肿瘤组织中表达越高,肿瘤生长越快,越容易转移,预后越差,并且更容易对化疗药物产生抵抗。

URG4 是一个新发现的原癌基因,可以做为一个新的抗肿瘤药物靶点。丙戊酸^[5]、亚硫酸盐^[6]和替莫唑胺^[7]等有望通过抑制 URG4 基因成为治疗神经母细胞瘤的有效药物。雷帕霉素^[16,34]可能通过下调 URG4 基因的表达,成为治疗激素抵抗型前列腺癌的新药物。抑制 URG4 的表达还能减轻肿瘤化疗药物的抵抗^[10]。

正常情况下,膀胱的尿路上皮中检测不到 URG4 蛋白表达。而在膀胱癌细胞中,URG4 的 mRNA 和蛋白质均有明显增加。用免疫组化分析 90 例 T1 期和 82 例 T2 膀胱癌组织,发现 37.8% (34/90) 的 T1 期和 87.8% (72/82) 的 T2 期中 URG4 蛋白阳性。URG4 与膀胱癌的大小、细胞分化状态、淋巴结转移数目、生存时间都存在相关性。URG4 表达越多,膀胱癌的进展越快,临床预后越差。同时发现,无论是在 RT4 和 5637 膀胱癌细胞系,还是在 BALB/c 裸鼠体内,上调 URG4 都会抵抗化疗药物顺铂诱导的细胞凋亡^[10]。在骨肉瘤中,URG4 的阳性率高达 89.96%,URG4 的表达程度与肿瘤的恶性程度相关。URG4 表达越多,PCNA 指数越高,骨肉瘤的恶性程度越高,生存期越短^[8]。

URG4 与鼻咽癌^[17]、上皮性卵巢癌^[35]、宫颈癌^[36]和急性 T 淋巴细胞白血病^[37,38]等癌症的发生发展和治疗、预后都有一定的关系。

4 问题与展望

URG4 作为一个新确定的癌基因,与多种癌症的发生发展、预后转移和药物抵抗都有关联。对 URG4 的研究,使人们对癌症的发生机制、早期诊断、干预治疗和预后评估有了新的认识。URG4 及其同系物的抗体可能成为更灵敏有效的生物标志物,已经被尝试用来诊断肝疾病和预测疾病的转归,具有很好的区分度和提示作用。通过阻断 URG4 在癌细胞中的表达,可以在信号通路的上游水平干预癌症的各种生物学特征,在癌症的治疗方面具有广阔的应用前景。但目前人们对 URG4 的基因表达调控和蛋白质加工修饰的详细过程并不清楚,只确定了 URG4 在各种癌症中表达异常,而未完全阐明具体的作用机制,对突变的 URG4 基因与其蛋白质的认识也不足。想要将对 URG4 的研究成果转化成为实

际应用,这些都亟待解决。

参考文献 (References)

- [1] Tufan NL, Lian Z, Liu J, *et al.* Hepatitis Bx antigen stimulates expression of a novel cellular gene, URG4, that promotes hepatocellular growth and survival[J]. *Neoplasia*, 2002, **4**(4): 355-368
- [2] 宋久刚. URG4 的表达及其促进胃癌发生发展的相关机制研究[D]. 第四军医大学(Song JG. The Expression of URG4 and its Mechanism in Promotion of the Development of Gastric Cancer [D]. Fourth Milit Med Univ), 2010
- [3] Song J, Xie H, Lian Z, *et al.* Enhanced cell survival of gastric cancer cells by a novel gene URG4 [J]. *Neoplasia*, 2006, **8** (12): 995-1002
- [4] Dodurga Y, Gundogdu G, Koc T, *et al.* Expression of URG4/URGCP, Cyclin D1, Bcl-2, and Bax genes in retinoic acid treated SH-SY5Y human neuroblastoma cells [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2013, **17**(4): 346-349
- [5] Dodurga Y, Gundogdu G, Tekin V, *et al.* Valproic acid inhibits the proliferation of SHSY5Y neuroblastoma cancer cells by downregulating URG4/URGCP and CCND1 gene expression[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, **41**(7): 4595-4599
- [6] Dodurga Y, Seçme M, Eroğlu, *et al.* Investigation of the effects of a sulfite molecule on human neuroblastoma cells via a novel oncogene URG4/URGCP[J]. *Life Sci*, 2015, **143**: 27-34
- [7] Çitişli V, Dodurga Y, Eroğlu C, *et al.* Temozolomide may induce cell cycle arrest by interacting with URG4/URGCP in SH-SY5Y neuroblastoma cells [J]. *Tumour Biol*, 2015, **36** (9): 6765- 6772
- [8] Huang J, Zhu B, Lu L, *et al.* The expression of novel gene URG4 in osteosarcoma: correlation with patients' prognosis[J]. *Pathology*, 2009, **41**(2): 149-154
- [9] Cai J, Li R, Xu X, *et al.* URGCP promotes non-small cell lung cancer invasiveness by activating the NF-κB-MMP-9 pathway [J]. *Oncotarget*, 2015, **6**(34): 36489-36504
- [10] Wu M, Chen J, Wang Y, *et al.* URGCP/URG4 promotes apoptotic resistance in bladder cancer cells by activating NF-κB signaling[J]. *Oncotarget*, 2015, **6**(31): 30887-30901
- [11] GeneCard[DB] <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=URGCP&keywords=urg4>
- [12] Tokay E, Kockar F. SPI is a transcriptional regulator of URG-4/URGCP gene in hepatocytes [J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, **423** (1-2): 75-83
- [13] UniProtKB[DB] <http://www.uniprot.org/uniprot/Q8TCY9>
- [14] 康玲, 来茂德. BTEB/KLF9 与基因转录调控[J] 遗传 (Kang L, Lai MD. BTEB/KLF9 and its transcriptional regulation[J]. (Hereditas, Beijing)), 2007, **29**(5): 515-522
- [15] Tokay E, Kockar F. Identification of intracellular pathways through which TGF-β1 upregulates URG-4/URGCP gene expression in hepatoma cells[J]. *Life Sci*, 2016, **144**: 121-128
- [16] Dodurga Y, Avci CB, Suslu SY, *et al.* The expression of URGCP gene in prostate cancer cell lines: correlation with rapamycin[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, **39**(12): 10173-10177
- [17] Yu G, Zhang T, Jing Y, *et al.* miR-519 suppresses nasopharyngeal carcinoma cell proliferation by targeting oncogene URG4/URGCP[J]. *Life Sci*, 2017, **175**: 47-51
- [18] Xie C, Song LB, Wu JH, *et al.* Upregulator of cell proliferation predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma and contributes to hepatocarcinogenesis by downregulating FOXO3a [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(7): e40607
- [19] 贾朝阳, 刘巍, 李委佳, 等. URG4 基因与肿瘤关系的研究进展[J]. 国际遗传学杂志 (Jia ZY, Liu W, Li WJ, *et al.* The role of URG4 gene in human tumor research[J]. *Int J Genet*), 2013, **36**(2): 65-68
- [20] Wang W, Jia WD, Xu GL, *et al.* Antitumoral activity of rapamycin mediated through inhibition of HIF-1α and VEGF in hepatocellular carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2009, **54** (10): 2128-2136

- [21] Zhang JF, Liu JJ, Lu MQ, *et al.* Rapamycin inhibits cell growth by induction of apoptosis on hepatocellular carcinoma cells in vitro[J]. *Transpl Immunol*, 2007, **17**(3): 162-168
- [22] Dodurga Y, Eroğlu C, Seçme M, *et al.* Anti-proliferative and anti-invasive effects of ferulic acid in TT medullary thyroid cancer cells interacting with URG4/URGCP[J]. *Tumour Biol*, 2016, **37**(2): 1933-1940
- [23] 崔浩, 张超, 刘涛, 等. 上调基因-4 在结肠癌中的表达及临床意义[J]. 第三军医大学学报. (Cui H, Zhang C, Liu T, *et al.* Expression of up-regulated gene-4 in colon cancer and its clinicopathologic significance[J]. *J Third Milit Med Univ*), 2011, **33**(1): 33-35
- [24] Avci CB, Dodurga Y, Gundogdu G, *et al.* Regulation of URG4/URGCP and PPAR α gene expressions after retinoic acid treatment in neuroblastoma cells [J]. *Tumour Biol*, 2013, **34**(6): 3853-3857
- [25] 幸思忠. URG4/URGCP 激活 NF- κ B 通路调控肝细胞癌血管增生的实验研究[D]. 南方医科大学 (Xing SZ. Study on URG4/URGCP regulating hepatocellular carcinoma angiogenesis via activation of the NF-KB signaling pathway[D]. *South Med Univ*), 2013
- [26] Kawauchi K, Araki K, Tobiume K, *et al.* p53 regulates glucose metabolism through an IKK-NF-kappaB pathway and inhibits cell transformation[J]. *Nat Cell Biol*, 2008, **10**(5): 611-618
- [27] Chen LC, Zhang HY, Qin ZY, *et al.* Serological identification of URGCP as a potential biomarker for glioma[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2014, **20**(4): 301-307
- [28] Hong L, Qing O, Ji Z, *et al.* Downregulation of miR-16 via URGCP pathway contributes to glioma growth [J]. *Sci Rep*, 2017, **7**(1):13470
- [29] 张小蓉, 陈于思. 乙型肝炎相关肝细胞癌前病变标志物的检测及临床意义[J]. 中国医学前沿杂志: 电子版 (Zhang XR, Chen YS. Detection of precancerous markers in HBV associated hepatocellular carcinoma and a significance of clinic [J]. *Chin J Front Med Sci*), 2016, **8**(6): 156-159
- [30] 王文, 王锦红, 缪晓辉, 等. ELISA 方法检测肝癌血清标志物的应用[J]. 中国生物制品学杂志 (Wang W, Wang JH, Miao XH, *et al.* Detection of serum markers of hepatocellular carcinoma by ELISA[J]. *Chin J Biol*), 2010, **23**(3): 307-309
- [31] Hann HW, Lee J, Bussard A, *et al.* Preneoplastic markers of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2004, **64**(20): 7329-7335
- [32] 张华, 项明洁, 王文, 等. 乙型肝炎相关原发性肝细胞癌的癌前标志物检测[J]. 标记免疫分析与临床 (Zhang H, Xiang MJ, Wang W, *et al.* Detection of Preneoplastic Markers of Hepatitis B Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma[J]. *Lab Immunoassays Clin Med*), 2009, **16**(2): 70-74
- [33] Wang W, Zhao LJ, Wang Y, *et al.* Application of HBx-induced anti-URGs as early warning biomarker of cirrhosis and HCC[J]. *Cancer Biomark*, 2011-2012, **11**(1): 29-39
- [34] Amato RJ, Jac J, Mohammad T, *et al.* Pilot study of rapamycin in patients with hormone-refractory prostate cancer [J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2008, **6**(2): 97-102
- [35] Li W, Zhou N. URG4 upregulation is associated with tumor growth and poor survival in epithelial ovarian cancer[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2012, **286**(1): 209-215
- [36] Zhang L, Huang H, Zhang L, *et al.* URG4 overexpression is correlated with cervical cancer progression and poor prognosis in patients with early-stage cervical cancer [J]. *BMC Cancer*, 2014, **14**: 885
- [37] Oymak Y, Dodurga Y, Turedi A, *et al.* Higher expression of the novel gene upregulated gene 4 in two acute lymphoblastic leukemia patients with poor prednisolone response [J]. *Acta Haematol*, 2012, **128**(2): 73-76
- [38] Dodurga Y, Oymak Y, Gündüz C, *et al.* Leukemogenesis as a new approach to investigate the correlation between up regulated gene 4/upregulator of cell proliferation (URG4/URGCP) and signal transduction genes in leukemia[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, **40**(4): 3043-3048