

JWA 基因与恶性肿瘤关系的研究进展

孙大千 谈永飞

肿瘤转移是恶性肿瘤生物学特征之一,也是临床治疗的难题。近年来对肿瘤抑制基因的研究已成为肿瘤转移机制研究的热点。JWA 基因是周建伟等1998年发现和克隆的受全反式维甲酸诱导的新的细胞骨架相关基因^[1]。近年来研究显示该基因具有肿瘤转移抑制作用。本文将在国内外最新研究成果的基础上对 JWA 基因及其编码产物结构、功能、抑制肿瘤细胞迁移的可能机制以及与多种恶性肿瘤的关系做以下综述。

一、JWA 基因及其编码产物的结构与功能

JWA 基因是由周建伟等^[1]在1998年从培养的原代人的气管和支气管上皮细胞中,利用差异显示反转录聚合酶链反应高通量筛选技术,分离克隆的一个受维甲酸诱导的与细胞分化调节有关的新的细胞骨架样基因,该基因登录在 NCBI 基因库中,其编号为 AF070523。JWA 基因广泛存在于多种动物组织(人、鼠、猴等)和培养细胞中(S-6、HBE、H178、H358、H5935、H431、H183、H549等细胞株以及原代培养的人/猴气管支气管上皮细胞),且大多呈高表达。JWA 基因定位于人染色体 3p14,基因全长 21kb,有 3 个外显子和 2 个内含子(AC092060),JWA 全长 cDNA 序列为 2088 个核苷酸,碱基组成比 AT/CG 为 61/39;编码区在 90~656bp 间,全长 cDNA 序列中含有 11 个单核苷酸多态性位点,其中有两个位点在编码区(428C/A; 546G/A);JWAcDNA 含有 2 个保守的功能区,即 PRA1(105bp~503bp)和 EN70(216bp~485bp)。JWAcDNA 长约 2.1kb,开放读框序列位于 5'端,共 564 个核苷酸,编码一个含 188 个氨基酸的蛋白质,计算相对分子质量为 21.5kDa^[2],其编码的 188 个氨基酸序列中存在 3 个膜转运区,每个区含有 23 个氨基酸,在 3 个膜转运区的两外侧各有 1 个含丝氨酸残基的蛋白激酶 C 磷酸化位点(SDR-SLR)。有研究已证明,PKC 的激活可延长微管的生长周期,促进微管的伸展^[3]。而 JWA 蛋白作为一种新的微管

相关蛋白,其对微管蛋白的结合能力以及动力学的影响可能是通过 PKC 位点的磷酸化-去磷酸化来修饰调节的。即 JWA 蛋白可能是蛋白激酶 C 的作用底物^[4]。周建伟等还运用 PCR 及重组体的方法,确定了 JWA 约 621bp 的启动子序列,在 JWA 基因的启动子序列中含有多种顺式反应元件如完整的佛波酯反应元件、维甲酸反应元件半位点、应激反应元件、血红素反应元件、NF- κ B 反应元件、热休克反应元件^[5]。其中 TRE 和 RARE 的存在提示 TPA 和 ATRA 可能通过与各自的反应元件结合而调控 JWA 基因^[6]。体外实验研究中提示 JWA 基因参与细胞分化和凋亡的调控。沈群等^[7,8]又在临床上对不同病期的人类髓系白血病 JWAmRNA 进行测定,结果与体外实验基本相一致。进一步证明 JWA 广泛参与了人类髓系白血病细胞定向分化和凋亡的调节,是多种诱导分化剂诱导细胞分化信号转导通路中共同的信号分子,在调节髓系白血病细胞分化及终末分化相关凋亡过程中有着至关重要的作用。至于 JWA 基因调节细胞分化和凋亡具体的作用机制有待进一步研究。JWA 基因还是一种环境应答基因,广泛参与细胞对环境因素的应答反应。茆文革^[9]、朱婷^[10]两个实验组分别研究 K562 细胞在多种诱导分化剂、热刺激、氧化剂(H₂O₂)诱导细胞损伤和凋亡中 JWA 蛋白、P53 蛋白、热休克蛋白的表达水平,结果在细胞损伤和凋亡中各蛋白表达都增高,这表明 JWA 可参与多种应激(诱导分化剂、热应激)的调控,并活跃地参与了细胞氧化损伤应激和凋亡的信号通路,并在其中可能起着积极的保护作用。对于 JWA 蛋白的研究目前显示它可能对微管的稳定性和运动有一定的调节作用,且参与细胞的有丝分裂,是一种新的功能性微管相关蛋白^[11]。另外有研究显示 JWA 蛋白是细胞内氨基酸总量的一种重要负性调节蛋白,对细胞内氨基酸平衡起调节作用^[12,13]。

二、JWA 与肿瘤

1. JWA 蛋白与多种肿瘤相关:周建伟带领的课题组对肝脏、肾脏、皮肤、甲状腺、心脏、卵巢等多种正

常组织及与其对应的肿瘤组织病理切片进行免疫组化,分析 JWA 蛋白在细胞内的分布情况。结果显示 JWA 广泛存在于多种组织、器官中,均匀分布在正常组织细胞质内,分布形式有两种—浆型和膜型。而在肿瘤特别是恶性肿瘤中阳性细胞质内出现团块状聚集的 JWA 阳性颗粒,分布凌乱、强弱不等。以上表明在肿瘤细胞与非肿瘤细胞中 JWA 蛋白的表达呈现明显异质性。进一步研究显示 JWA 蛋白在高分化与低分化癌中有明显差异,一些高分化癌中 JWA 蛋白表达明显高于低分化癌,即 JWA 蛋白表达强度与肿瘤细胞分化程度有关。

2. JWA 基因多态性与多种肿瘤易感性相关:周建伟课题组以消化道恶性肿瘤(食管癌、胃癌、结肠癌、肝癌)患者为研究对象,通过对这些患者 JWA 基因启动子(-76G/C)和外显子(723T/G)的两个多态性位点频率的分析,发现-76G/C 与消化道肿瘤易感性显著相关,存在-76G/C 这种基因变异的个体明显增加消化道肿瘤发生的易感性,在大于 60 岁年龄段病例中尤为明显^[14]。最近研究又发现,JWA 基因的两个 SNPs 位点(-76G/C 和 723T/G)与白血病、膀胱癌肿瘤发生危险性的相关性具有统计学意义,而且-76G/C 多态性很可能是功能性的,-76C 等位基因在对环境氧化应激应答过程中可明显抑制 JWA 基因的转录活性,导致 JWA 基因表达下调或缺失,继而使白血病、膀胱癌发病的危险性增加^[15-17]。此外朱慧等^[18]通过对 JWA 基因-76G/C、454C/A 和 723T/G 多态性 3 个位点频率的分析,发现了-76G/C 和 454C/A 与宫颈癌危险性显著相关;CAT 单倍体显著增加患宫颈癌危险性;携带 3~5 个危险等位基因者更加具罹患宫颈癌的风险。

3. JWA 基因可能与抑制细胞恶性转化相关:周建伟课题组构建了 JWA 高表达和正常的人支气管上皮(HBE)细胞株,再用烷化剂甲基硝基亚硝基胍诱导恶性转化,检测第 15 代 HBE 细胞生长情况,结果显示 JWA 高表达细胞株恶性转化率明显低于正常 HBE 恶性转化率,同时未经甲基硝基亚硝基胍诱导的 HBE 细胞株恶性转化率也明显低于正常 HBE 恶性转化率。这表明在甲基硝基亚硝基胍诱导 HBE 细胞恶性转化过程似乎可被细胞内高表达的 JWA 所阻止,即 JWA 很可能起类似抑癌基因的作用。进一步研究显示 JWA 可能是通过对突变型 P53 蛋白表达的下调来抑制细胞向恶性肿瘤细胞方向的发展。另外 JWA 应答在甲基硝基亚硝基胍诱导 HBE 恶性转化

过程中可能激活了细胞内核转录因子 NF- κ B,并调节 JWA 基因表达水平,从而影响 MNNG 对细胞恶性转化的结局。这一特性可能对多种人体细胞适用,具体机制有待进一步研究。

三、JWA 基因抑制肿瘤细胞迁移的可能机制

尽管到目前为止,关于 JWA 抑制肿瘤细胞迁移的具体机制尚未明确,但最近研究表明 JWA 参与肿瘤细胞迁移的调节,是促癌剂或抑癌剂诱导细胞迁移信号转导通路中共同的信号分子,在 MAPK 信号通路以及肌动蛋白丝的重组过程中起重要的作用。JWA 可能是细胞内控制肿瘤细胞转移的新的分子标志物。

1. JWA 通过 MEK-ERK 相关通路调节细胞迁移:陈海蓉等用 Western blot 检测 MAPK 信号通路级联中 Raf-MEK-ERK 和其磷酸化的表达,结果显示在 As₂O₃ 和 PAM 影响 Hela 细胞迁移模型中 Raf-MEK-ERK 被磷酸化,而 JWA 基因下调后,MEK 和 ERK 不能被磷酸化,但 Raf 的磷酸化未受到影响。即 JWA 表达与 MEK 和 ERK 的磷酸化有关,但不影响 Raf,功能上类似一个 MAPKKK 分子。同时提示 JWA 可能通过影响 ERK 信号通路而调控细胞迁移,影响环节在于对 MEK 的调节。PKC 可能作为 JWA 的上游调控因子之一,磷酸化 JWA,影响 ERK 信号通路,进而调控细胞迁移。进一步研究证实 JWA 参与 PMA/As₂O₃ 激活的 MEK-ERK 通路,并且激活了 ERK 不同的磷酸化位点,进而激活 ERK 下游不同的底物 COX-2/FAK 的表达,最终引起肿瘤细胞迁移的不同效应。即 JWA 基因下调后,能显著减弱 As₂O₃ 对 Hela 细胞迁移的抑制作用,同时促进 PMA 诱导的迁移。并且 JWA 在 MAPK 通路中可能是介于 Raf 和 MEK 的磷酸化底物,JWA 蛋白磷酸化在 MAPK 信号通路介导的细胞迁移中起重要作用。

2. JWA 在信号通路中同时调控微管和肌动蛋白系统并影响细胞迁移:陈海蓉等通过构建 JWA 和 JWA 缺陷型 Hela 细胞株,发现在 JWA 表达缺陷的 Hela 细胞株中肌动蛋白丝开始重组,细胞的边缘随之伸出一些突触。提示 JWA 可能是微管和肌动蛋白丝结合蛋白,调节细胞骨架组装。在促癌剂 PMA 和抑癌剂 As₂O₃ 分别诱导 Hela 细胞株肌动蛋白丝重组的细胞模型中,JWA 表达缺陷的细胞的肌动蛋白丝的重组情况明显提前,进一步提示 JWA 参与细胞肌动蛋白丝的重组过程,并且在促癌和抑癌剂诱导的细胞肌动蛋白丝的解聚聚合中起作用。即 JWA 作为新的微管相关蛋白可能在信号通路中同时调控微管和

肌动蛋白系统并影响细胞迁移。陈海蓉等还用细胞穿孔模型检测几种肿瘤细胞株细胞迁移中 JWA 的作用,结果证实 JWA 高表达可以抑制 HeLa、HCCLM3 和 B16 等肿瘤细胞的迁移,JWA 表达缺陷则促进上述肿瘤细胞的迁移。进一步研究还证实 JWA 在肿瘤细胞的定向和非定向迁移中均起重要作用,JWA 能够抑制肿瘤细胞的迁移。

前期的研究先后证实了 JWA 基因是一种环境应答基因,受多种诱导分化剂的调节,与细胞分化和凋亡相关,广泛参与细胞对应激刺激的应答,参与 DNA 损伤和修复过程。其基因多态性与多种恶性肿瘤尤其是消化道肿瘤易感性相关。JWA 基因还与多种恶性肿瘤发生机制有关,已证实与急、慢性粒细胞白血病有明确关系。另外 JWA 参与调节肿瘤细胞的迁移,起类似抑癌基因的作用。可以相信,随着分子生物学的不断发展和对该基因的更深入的研究,对关于 JWA 抑制肿瘤细胞迁移的确切机制、其在恶性肿瘤发生、发展和转移过程中的作用、是否能成为观察肿瘤患者预后及转移的指标等问题都将得到揭晓。

参考文献

- 1 周建伟, D:PY, Zhao YH, 等. 新的细胞骨架样相关基因——JWA 的克隆、鉴定、序列分析、表达调控和组织分布研究. //:叶鑫生, 等. 细胞调控的探索. 北京:军事医学科学出版社. 1999:110 - 119
- 2 Xia W, Zhou J W, Cao H X, *et al.* Relationship between structure and function of JWA in the modulation of cell differentiation. Chinese Science Bulletin, 2001, 46(24):2063 - 2067
- 3 Nakhost A, Kabir N, Forscher P, *et al.* Protein kinase C isoforms are translocated to microtubules in neurons. J Biol Chem, 2002, 277: 40633 - 40639
- 4 曹海霞,夏薇,沈群,等. JWA 参与维甲酸、佛波酯和三氧化二砷诱导急性早幼粒细胞性白血病细胞分化和凋亡的可能机制. 科学通报, 2001, 46(23):1979
- 5 夏薇,周建伟,曹海霞,等. JWA 参与调控细胞分化的结构和功能. 科学通报, 2001, 46(9): 734 - 738
- 6 沈群,周建伟,盛瑞兰. JWA 基因在 HL-60 细胞定向分化中的表

达及意义. 中国实验血液学杂志, 2005;13(5):804 - 808

- 7 沈群,盛瑞兰,陆化,等. 急性非淋巴细胞性白血病中 JWA 基因表达的意义. 南京医科大学学报, 2001, 21(5):406 - 407
- 8 沈群,周建伟,盛瑞兰,等. 半定量 RT-PCR 检测 JWA 基因在慢性粒细胞性白血病的表达. 江苏医药杂志, 2001, 27(10):721 - 723
- 9 茆文革,李爱萍,叶健,等. 诱导分化剂和热应激对 K562 细胞 JWA 和热应激蛋白 70 表达的影响. 中国劳动卫生职业病杂志, 2003, 21(4):253 - 256
- 10 朱婷,李爱萍,刘起展,等. 过氧化氢处理 K526 细胞中 JWA 基因的表达及其与 DNA 损伤和凋亡的关系. 中华预防医学杂志, 2005, 39(3):182 - 186
- 11 陈海蓉,李爱群,李爱萍,等. JWA 蛋白与 α -微管蛋白结合和对微管稳定性的调节. 南京医科大学学报, 2004, 24(5):519 - 521
- 12 李爱群,李爱萍,周建伟,等. 一种新的微管相关蛋白 JWA 对细胞内氨基酸平衡有重要调节作用[J]. 科学通报, 2003, 48(14): 1535 - 1541
- 13 Li Aiqun, Li Aiping, Zhou Jianwei, *et al.* JWA, a novel microtubule-associated protein, regulates homeostasis of intracellular amino acids in PC21 cells [J]. Chinese Science Bulletin, 2003, 48:1828 - 1834
- 14 Tang W Y, Wang L, Li C, *et al.* Identification and functional characterization of JWA polymorphisms and their association with risk of gastric cancer and esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population [J]. J Toxicol Environ Health A, 2007, 70(11): 885 - 894
- 15 Shen Q, Tang W Y, Li CP, *et al.* Functional variations in the JWA gene are associated with increased odds of leukemias [J]. Leuk Res, 2007, 31(6): 783 - 790
- 16 Zhu Y J, Li CP, Tang W Y, *et al.* Single nucleotide polymorphism of the JWA gene is associated with risk of leukemia; a case-control study in a Chinese population [J]. J Toxicol Environ Health A, 2007, 70(11):895 - 900
- 17 Li CP, Zhu Y J, Chen R, *et al.* Functional polymorphisms of JWA gene are associated with risk of bladder cancer [J]. J Toxicol Environ Health A, 2007, 70(11):876 - 884
- 18 朱慧,王美林,李春平,等. JWA 基因 -76G/C 和 454C/A 多态性与宫颈癌易感性. 南京医科大学学报, 2008, 28(4): 462 - 466
(收稿:2009-09-10)
(修回:2009-12-23)

我国艾滋病总体呈低流行态势

卫生部近日发布了联合国艾滋病规划署和世界卫生组织联合对中国 2009 年艾滋病疫情的评估结果,结果显示,截至 2009 年底,估计中国目前存活艾滋病病毒感染者和患者约 74 万人,其中,艾滋病患者为 10.5 万人,估计今年新发艾滋病病毒感染者 4.8 万人。目前,中国的艾滋病疫情上升幅度进一步减缓,性传播成为主要传播途径,尤其是同性间传播上升速度明显。全国艾滋病总体呈低流行态势,部分地区疫情严重,全国艾滋病受影响人群增多,流行模式多样化。卫生部相关负责人表示,我国特定人群和部分重点地区已经出现高流行态势,艾滋病流行危险因素广泛存在,防治形势依然严峻。今后卫生部等有关部门将继续开展艾滋病宣教工作,提高艾滋病干预措施覆盖面,将社区药物维持治疗与国家禁吸戒毒工作有机结合,进一步落实“四免一关怀”等政策,动员引导社会力量参与艾滋病防治工作。