

抑癌基因 WWOX 在口腔肿瘤的研究进展

徐 敏 谢思明

摘 要 WWOX(WW domain containing oxidoreductase) 基因是近年来研究较多的抑癌基因,被认为与多种肿瘤相关,可通过多种途径诱导肿瘤细胞的凋亡而发挥抑制肿瘤的作用。目前该基因在口腔肿瘤中的功能机制仍未完全明了,有待于进一步研究,对 WWOX 基因的深入研究将会为口腔肿瘤的预防、诊断、治疗及预后等方面提供新的思路。

关键词 WWOX 基因 抑癌基因 肿瘤 口腔肿瘤

中图分类号 R739.8

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.09.049

肿瘤的发生、发展是一个多步骤、复杂的基因改变过程,癌基因激活和抑癌基因的失活或缺失都起着重要作用。Bednarek 等在染色体脆性位点 FRA16D 区域克隆出了一个新基因 WWOX,它与多种肿瘤的发生及发展密切相关^[1]。口腔颌面部肿瘤约占全身恶性肿瘤的第 6 位。

一、WWOX 的结构特征及功能

WWOX 基因(WW domain containing oxidoreductase)位于染色体 16q23.3~24.1,是 1 个包含 9 个小外显子和 1 个巨大内含子的极大型基因。WWOX 含有 2 个 WW 结构域和 1 个 C 端短链脱氢还原酶位点。WWOX 基因编码是一个 414 个氨基酸长、相对分子质量为 46.6kDa 的蛋白,N 端与 NEDD4、YAP65 及其他含 WW 结构域的蛋白同源,也与 SDR 家族的蛋白同源^[1]。

二、WWOX 在肿瘤中的作用机制

1. 与致癌因素关系:WWOX 基因在外界致癌因素和诱变剂影响后极易损伤,主要在中期染色体易形成断裂及缺口,影响正常的调节功能^[1]。烟草中的尼古丁损伤口腔黏膜的成纤维细胞 DNA,使上皮细胞分化失去控制,并影响人牙龈成纤维细胞中 WWOX mRNA 的转录,随着尼古丁浓度的增加 WWOX mRNA 转录水平降低,促发癌变^[2]。

2. 基因缺失及突变:一系列的研究提示,胃癌、肺癌、食管癌等病因与 WWOX 基因杂合性及纯合性缺失、基因突变及外显子缺失等有关^[3-5]。WWOX 基因杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH)与 WWOX 蛋白表达减少有关,提示 LOH 可能直接下调 WWOX

蛋白表达,在胃贲门腺癌及食管鳞状细胞癌中,WWOX 基因出现至少一个位点的 LOH 率为 45.6% 和 41.4%^[3,5]。口腔鳞癌组织中 WWOX 基因表达低于正常口腔黏膜组织,且其发生、发展过程中 WWOX 基因发生了 LOH^[6]。WWOX 的异常突变形式有 WWOX mRNA 选择性剪接及 WWOX 等位基因的外显子缺失,有研究者观测到胃癌组织中 WWOX 基因关键区域出现了频繁突变,且 WWOX 位点基因突变也与胃癌的发生与分期相关^[3]。WWOX 上的 CNV-67048 缺失会导致 WWOX 活性下降,促发肺癌、神经胶质瘤等,CNV-67048 缺失可作为肿瘤的易感性基因生物学标志物^[4,7]。

3. 与细胞内信号通路的关系:已有很多研究者研究发现,WWOX 与细胞内信号通路如 JNK 通路、p53 通路等相互作用,表现为抑制或者协同,说明 WWOX 在抑制转录和诱导凋亡中起着十分重要的作用^[8,9]。

4. 其他机制:启动子的甲基化可能也是下调 WWOX 基因致癌的机制之一。王晓天等^[10]得出膀胱癌组织中 WWOX 启动子区的甲基化率达 35.2%,且甲基化率与癌组织分级正相关。给予 DNA 甲基化转移酶抑制剂 5-Aza 刺激后,使 WWOX 的表达逆转,从而抑制细胞增殖,吸烟及胍苯吡嗪等因素可促进 WWOX 甲基化^[11-13]。Tsai 等^[14]发现抗肿瘤药甲氨蝶呤能上调 WWOX 表达,在用甲氨蝶呤治疗人类鳞状上皮细胞癌中,WWOX 起着抑制自体吞噬,诱导细胞凋亡的作用。

三、WWOX 与口腔肿瘤

1. 口腔鳞状细胞癌:口腔鳞状细胞癌是口腔最常见的恶性肿瘤,具有高度侵袭性和远处淋巴转移能力,研究中 35% WWOX 基因表达异常或缺失,出现了部分或全部的外显子缺失,其中 1 例出现了两个转录

变体,一个变体为 $\Delta 6 \sim 8$ 缺失,另一个变体则为 $\Delta 7$ 缺失,WWOX蛋白在口腔鳞癌组织中的阳性表达率显著低于正常组织,并且其mRNA的表达水平在鳞癌组织中亦明显降低,WWOX的低表达或不表达可能与口腔鳞癌的发生、发展有关^[6,15]。补蔚萍等^[16]认为WWOX基因在牙龈鳞癌中的表达呈负相关,其蛋白表达与临床分期明显相关。此外研究中也发现了口腔白斑中WWOX mRNA和(或)WWOX蛋白表达异常,基因变异水平的记录和评估可以用来预警肿瘤发生,但临床中仍无一种基因生物学标志物,能预测何种类型的白斑会在其发展过程中处于“静止”状态或者加速恶变为侵袭性鳞癌^[15]。

2. 颌骨疾病:(1)颌骨巨细胞病变:颌骨中央型巨细胞瘤多发于下颌骨,导致牙松动和骨皮质穿孔破坏。中央型和周围型巨细胞瘤中多核破骨样巨细胞混杂着一些椭圆向梭型过渡的单核细胞,单核细胞在颌骨巨细胞瘤中首先增殖,巨细胞中WWOX表达高于单核细胞,由此可推测中央型和周围型巨细胞瘤是由单核细胞胞质核聚变达到多核状态^[17]。研究显示,中央型和周围型的颌骨巨细胞瘤中WWOX mRNA表达差异无统计学意义,非进展中央型颌骨巨细胞瘤的WWOX表达呈显著高水平,但值得思考的是WWOX表达下降并保持进展侵袭性是作为一个起始因素还是作为一个过渡载体仍有待于探讨^[17]。(2)颌骨肿瘤及相关骨病损:Diniz等^[18]研究发现骨肉瘤和纤维肉瘤中均有WWOX表达改变,良性骨肿瘤的WWOX蛋白表达比恶性骨肿瘤高,恶性骨肿瘤与WWOX相关性低于良性骨肿瘤。研究者观察到颌骨肿瘤中WWOX基因外显子出现了部分或全部缺失,此外也首次发现颌骨骨化纤维瘤中存在WWOX转录异常,提示WWOX基因缺失与骨组织代谢缺陷和骨肉瘤形成有关^[18]。

3. 涎腺肿瘤:涎腺肿瘤约占头颈部肿瘤的5%。Gomes等^[9]在研究中发现良恶性涎腺肿瘤的WWOX基因甲基化与对照组无显著区别,涎腺肿瘤的WWOX基因存在异常转录和WWOX mRNA表达下降,92.3%的涎腺肿瘤中WWOX基因异常转录为DNA整倍体,而DNA整倍体与p53、p73、 Δ Np73及细胞增殖指数有关,推测非整倍体与恶性肿瘤之间可能有关联。涎腺的恶性肿瘤与人类其他组织的恶性肿瘤一样均存在着WWOX表达的减少或缺失,基底样型涎腺恶性肿瘤的发病机制与基底样型乳腺癌有相似的作用。Dincer等提出WWOX和脆性组氨酸三

联体(fragile histidine triad, FHIT)的表达减少可能是涎腺肿瘤基底样分化的机制之一,研究发现黏液表皮样癌和腺样囊性癌中,WWOX基因表达缺失或减少率为25%和83.3%,腺样囊性癌中FHIT和WWOX表达减少比黏液表皮样癌更为普遍和显著。

四、展 望

位于脆性位点FRA16D的WWOX基因通过各种机制参与了细胞生长的负性调节、调控细胞衰老及凋亡,诱导口腔肿瘤及其他系统肿瘤细胞凋亡并抑制肿瘤增殖。但有研究者对其“抑癌”身份存有争议,认为WWOX基因具有较高促癌性,可能是导致肿瘤发生的初始因子。WWOX基因转录异常是否是肿瘤发病机制的早期过程,还是仅仅只是肿瘤进展过程的结果,这还有待于进一步研究。

近年来对口腔肿瘤的研究越来越多地集中在抑癌基因上,而WWOX作为脆性位点上的基因更是研究的重点之一,对WWOX的研究将有助于揭示口腔肿瘤发生、发展过程中的分子机制,对WWOX mRNA及其蛋白表达的变化情况进行研究,将利于临床上寻找口腔肿瘤早期的诊断指标,为指导口腔肿瘤及其他组织系统肿瘤的基因治疗提供了新靶点,并利于识别高危转移和不良预后者,也为外科治疗口腔肿瘤提供了理论依据。

参考文献

- 1 Bednarek AK, Laflin KJ, Daniel RL, *et al.* WWOX, a novel WW domain - containing protein mapping to human chromosome 16q23.3 - 24.1, a region frequently affected in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(8): 2140 - 2145
- 2 康景佳,王雅英,杜阳. 尼古丁对人牙龈成纤维细胞中抑癌基因WWOX表达的影响[J]. *辽宁医学院学报*, 2010, 31(3): 199 - 202, 290
- 3 Guo W, Dong Z, Dong Y, *et al.* Genetic and epigenetic alterations of WWOX in the development of gastric cardia adenocarcinoma[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2013, 54(2): 112 - 123
- 4 Huang D, Qiu F, Yang L, *et al.* The polymorphisms and haplotypes of WWOX gene are associated with the risk of lung cancer in southern and eastern Chinese populations[J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(1): E19 - 27
- 5 Guo W, Wang G, Dong Y, *et al.* Decreased expression of WWOX in the development of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(4): 265 - 274
- 6 李一军. WWOX在口腔癌前病变及鳞状细胞癌中表达的研究[D]. 长春:吉林大学, 2010
- 7 Yu K, Fan J, Ding X, *et al.* Association study of a functional copy number variation in the WWOX gene with risk of gliomas among Chinese people[J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(7): 1687 - 1691

(转第130页)

胞内谷胱甘肽和肌醇水平下降,促使晚期糖基化终末产物及纤维连接蛋白增加,加剧肾小球硬化和肾小管间质纤维化发展过程^[7]。依帕司他是一种新型的醛糖还原酶抑制剂,可减少山梨醇生成,同时抑制蛋白激酶 C 的激活及转移生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor, TGF- $\beta 1$)生成,抑制肾小球基膜增厚、电荷丢失和系膜扩张,发挥肾脏保护作用^[8]。

导致 DN 足细胞损伤原因可由多种因素引发,包括机械应力、炎症反应、肾素-血管紧张素系统 (renin angiotensin system, RAS) 的激活、糖基化产物蓄积、氧化应激及 TGF- $\beta 1$ 等因素。TGF- $\beta 1$ 是一种多功能细胞因子,可调节大部分细胞的生长、分化和凋亡。在 DN 状态下,TGF- $\beta 1$ 可促使足细胞凋亡及肾小球硬化。足细胞裂隙膜特异性蛋白 nephrin, 属免疫球蛋白超家族,具有结合带负电荷的糖基化产物能力,形成肾小球滤过膜的电荷屏障。足细胞 nephrin 表达可因各种炎症和非炎症损伤出现异常,引起细胞信号转导发生障碍,导致足细胞骨架蛋白排列紊乱,从基膜剥离、脱落,肾小球滤过屏障受损,最终导致蛋白尿的产生。

本研究中观察醛糖还原酶抑制剂依帕司他对 DN 患者足细胞相关蛋白 nephrin 表达的影响。在依帕司他治疗下,DN 患者尿白蛋白排泄率显著下降,发挥肾脏保护作用,与先前研究一致^[4,5]。为了解依帕司他对尿足细胞损伤的影响,测定其特异性蛋白 nephrin 表达水平。实验中观察到依帕司他可减少 DN 患者尿 nephrin 表达,减轻肾小球损伤。nephrin 蛋白从足细胞脱落入尿液中形成尿 nephrin 蛋白。DN 早期足细胞 nephrin 蛋白表达代偿性增加,足细胞骨架蛋

白重新分布,nephrin 蛋白与足细胞骨架蛋白解离从足细胞脱落随尿液排出体外^[3]。TGF- $\beta 1$ 对细胞外基质具有强大促纤维化作用,同时能抑制多种肾脏细胞增殖诱导细胞肥大,可能是糖尿病肾小球硬化的一个重要因素。研究中观察到 DN 患者尿 TGF- $\beta 1$ 表达显著增加,依帕司他干预后其表达水平显著下降。依帕司他治疗 DN 患者,可同时显著减少尿 nephrin 和 TGF- $\beta 1$ 的表达。其机制可能为依帕司他抑制 TGF- $\beta 1$ 生成,减少炎症反应,足细胞损伤减轻,nephrin 蛋白从足细胞脱落入尿液减少,尿 nephrin 和 TGF- $\beta 1$ 检测指标下降^[8]。

综上所述,依帕司他可减轻早期 DN 患者尿白蛋白排泄率,减少尿 nephrin 表达,该途径可能是通过抑制 TGF- $\beta 1$ 的表达实现的。

参考文献

- Farag YM, Al Wakeel JS. Diabetic nephropathy in the Arab Gulf countries[J]. *Nephron Cl in Pract*, 2011, 119(4):c317-c322
- Lin CL, Wang FS, Hsu YC, *et al.* Modulation of Notch-1 signaling alleviates VEGF-mediated diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2010, 59(8):1915-1925
- Welsh GI, Saleem MA. Nephrin-signature molecule of the glomerular podocyte[J]. *J Pathol*, 2010, 220(3):328-337
- 万青松, 欧继红, 谢红萍, 等. 依帕司他对早期 2 型糖尿病肾病的保护作用[J]. *广东药学院学报*, 2009, 25(1):94-96
- 王虹, 王海霞. 依帕司他治疗糖尿病肾病的临床观察[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2011, 12(9):808-809
- 刘力涛. 糖尿病肾病的治疗进展[J]. *医学理论与实践*, 2014, 27(6):726-728
- Lewko B, Latawiec E, Maryn A, *et al.* Osmolarity and glucose differentially regulate aldose reductase activity in cultured mouse podocytes[J]. *Exp Diabetes Res*, 2011, 2011:278963
- 李海珍. 醛糖还原酶在糖尿病肾病发病中的作用机制[J]. *医学综述*, 2011, 17(8):1190-1192

(收稿日期:2015-01-05)

(修回日期:2015-01-19)

(上接第 174 页)

- Jamshidiha M, Habibollahi P, Ostad SN, *et al.* Primary WWOX phosphorylation and JNK activation during etoposide induces cytotoxicity in HEK293 cells[J]. *Daru*, 2010, 18(2):141-145
- Gomes CC, Diniz MG, Oliveira CS, *et al.* Impact of WWOX alterations on p73, $\Delta Np73$, p53, cell proliferation and DNA ploidy in salivary gland neoplasms[J]. *Oral Dis*, 2011, 17(6):564-571
- 王晓天, 宋永胜, 崔军, 等. 膀胱移行细胞癌组织与尿沉渣细胞 WWOX 基因启动子甲基化相关性研究[J]. *重庆医学*, 2013, 42(14):1564-1567
- Matteucci E, Maroni P, Luzzati A, *et al.* Bone metastatic process of breast cancer involves methylation state affecting E-cadherin expression through TAZ and WWOX nuclear effectors[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(1):231-244
- Yang W, Cui S, Ma J, *et al.* Cigarette smoking extract causes hypermethylation and inactivation of WWOX gene in T-24 human bladder cancer cells[J]. *Neoplasia*, 2012, 59(2):216-223
- 李甲振, 徐宗潮, 张岩, 等. 胍苯哒嗪对人骨肉瘤细胞的生长抑制

及对 WWOX 基因的调控作用研究[J]. *中华骨科杂志*, 2014, 34(5):593-597

- Tsai CW, Lai FJ, Sheu HM, *et al.* WWOX suppresses autophagy for inducing apoptosis in methotrexate-treated human squamous cell carcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 5(4):e792
- Pimenta FJ, Gomes DA, Perdigão PF, *et al.* Characterization of the tumor suppressor gene WWOX in primary human oral squamous cell carcinomas[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(5):1154-1158
- 补蔚萍, 杨清宇, 石静, 等. 牙龈鳞癌中 WWOX 基因的表达及其临床意义[J]. *临床医药实践*, 2012, 21(3):168-170
- Amaral FR, Diniz MG, Bernardes VF, *et al.* WWOX expression in giant cell lesions of the jaws[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2013, 116(2):210-213
- Diniz MG, Borges ER, Pimenta FJ, *et al.* Evidence of molecular alterations in the tumour suppressor gene WWOX in benign and malignant bone related lesions of the jaws[J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(2):499-502

(收稿日期:2015-01-17)

(修回日期:2015-01-28)