

临床康复理论与实践,2008,14(1):41-41.

- [8] 张浩. 肩手综合征[J]. 中国康复理论与实践,2002,8(1):62.
- [9] 孙钱,涂会引,万有. 异常电活动的特点及其与慢性病理性痛的关系[J]. 生理科学进展,2004,35(4):325-328.
- [10] 顾立强,裴国献. 周围神经损害基础与临床[M]. 北京:人民军医出版社,2001:543-546.
- [11] 宋艳玲. 肩手综合征的康复护理[J]. 中华临床与卫生,2004,2(6):53.
- [12] 陈爱,陈逢俭,郑真,等. 综合康复治疗脑卒中后肩手综合征的效果观察[J]. 中国实用医药杂志,2007,2(13):34.
- [13] 唐峰. 星状神经阻滞配合针刺疗法治疗脑卒中后肩手综合征[J]. 针灸临床杂志,2007,23(9):23-24.
- [14] 陈光伟,车福友. 肩周封闭治疗脑卒中后肩手综合征疗效观察[J]. 现代医药卫生,2008,24(19):2910.
- [15] 宗重博. 反射性交感神经营养不良的康复[J]. 国外医学:物理和康复学分册,2000,20(2):739.
- [16] Muizelear CRPS. Management with the calcium channel blocker nifedipine and/or the alpha sympathetic block phenoxybenzamine in 59 patients[J]. Clin Neurol Neurosurg,1997,99(1):26-30.
- [17] 吴海青. 氯胺酮在复杂的局部疼痛综合征治疗中的应用[J]. 岭南急诊医学杂志,2005,10(1):30-31.
- [18] 薛艺东. 加味补阳还五汤配合神经功能康复训练治疗卒中后肩手综合征[J]. 中西医结合心脑血管杂志,2008,6(5):621-622.
- [19] 曾永蕾,孔红兵,王震,等. 中药湿热敷配合针刺治疗脑卒中后肩手综合征 30 例[J]. 安徽中医学院学报,2007,26(4):28-30.
- [20] 王宝玉,成惠娣. 中药贴敷结合康复运动治疗脑卒中后肩手综合征[J]. 现代中西医结合杂志,2007,16(22):3173.
- [21] 林雪. 针刺治疗脑卒中后肩手综合征的疗效观察[J]. 针灸临床杂志,2007,23(4):19.
- [22] 许益强,高兵兵,武娜,等. 耳针治疗卒中后肩手综合征临床疗效分析[J]. 中华中医药学刊,2009,27(5):1048-1051.
- [23] 徐世芬,庄礼兴,贾超,等. 靳三针法配合功能训练治疗中风偏瘫后肩手综合征的临床观察[J]. 广州中医药大学学报,2010,27(1):19-21.
- [24] 柴俊飞. 推拿结合中药熏洗治疗卒中后肩手综合征临床体会[J]. 现代中西医结合杂志,2008,17(5):722.

(收稿日期:2012-04-15 修回日期:2012-05-21)

NOB1 基因与肿瘤

黎雁英(综述) 周英琼(审校)

(广西桂林医学院附属医院病理科,桂林市 541001)

【关键词】 NOB1 基因;肿瘤;蛋白酶体;卵巢癌

【中图分类号】 R 730.2 【文献标识码】 A 【文章编号】 1673-7768(2012)04-0394-03

人类 NOB1 基因是近年来新发现的一个基因,它是于 2005 年被鉴定的一个新分子。研究表明 NOB1 通过调节基因的转录参与肿瘤的发生和发展。本文就 NOB1 基因的结构特点和研究进展综述如下。

1 NOB1 基因的结构特点

NOB1 基因 Non1p(Nin one binding protein)蛋白作为一种锌带蛋白,最早是通过利用酵母双杂交方法在酵母中发现的,它对于溶酶体的组装和成熟以及对于核糖体 RNA (ribosomalRNA, rRNA) 的形成发挥着重要的作用^[1]。Zhang 等^[2] 通过研究发现,人类 NOB1 定位于染色体的 16q22.1,包含 9 个外显子和 8 个内含子。NOB1(cDNA)全长 1749 bp,其包含一个开放阅读框:由 33~1271 bp 组成,编码 412 个氨基酸序列的蛋白,分子量为 46 kDa。其 PIN (PiIT aminotermius) 结构域位于 N 端,而 ZNRD1 (zinc ribbon domain-containing 1, 锌带) 结构域位于 C 端,两者共同构成了 NOB1 蛋白。

1.1 PIN 的作用机制 PIN 结构域包含约 100 个氨基酸,与核糖核酸酶功能相关。NOB1 蛋白可与 20 S 前体 rRNA 一起从细胞核转运到细胞质之中,其通过 PIN 结构域结合前体 rRNA 使核酸内切酶在 D 位点裂开的 3'-末端,促进

18 S RNA 的成熟^[3]。NOB1 蛋白的缺失会促使 20 S 前体 rRNA 的堆积以及 18 S rRNA 合成数量减少^[4]。Heather 等^[5] 通过结合古典酵母生物化学与利用重组蛋白和 RNA 的实验来研究了 DIM2 的角色及其与 Nob1 相互作用的关系,研究结果表明在真核生物核糖体的组装中, DIM2 和 Nob1 之间的相互作用是最佳生长所必需的,同时 DIM2 能增加 Nob1 RNA 的亲合力。此外, DIM2 有助于调节 Nob1 在 3'-末端的 18 S rRNA 的切割活性,作为点突变体,在体外去除这种相互作用会导致含有 Nob1 和 20 S rRNA 基因的前核糖体在体内的堆积。而且,与 Nob1 相互作用的位点映射到规范的一个 DIM2 的 KH-RNA 表面结合域,提供了另一种 RNA 结合域。PIN 结构域就是通过此途径在核糖体的组装和蛋白质的合成中发挥重要作用。

1.2 ZNRD 与转录 ZNRD1 结构主要由 1 个三股的反平行片状结构和杂环构成,长约 90 个氨基酸^[6]。ZNRD1 最早是在 TF II S(transcription factor S-II) 中被发现的,研究证明它有对转录起决定性作用的功能性结构域^[7]。ZNRD1 在细菌、酵母、昆虫、动物的进化过程中均保持高度的保守性,与其他很多转录相关蛋白关系密切。人类肿瘤的发生发展中,ZNRD1 与其密切相关。有研究显示肾癌组织中,ZNRD1 蛋白处于高表达状态,是肾癌的正向调节因子^[8]。但目前对于 ZNRD1 在肿瘤中的详细作用机制尚不清楚,研究显

示^[9]ZNRD1 是通过下调 cyclinD1 (细胞周期素 D1) 的表达将细胞增长阻滞于在 G1 期,由此推断 NOB1 可能通过 ZNRD1 结构域而参与调节细胞生长和增殖,在转录调节中发挥重要作用。

2 NOB1 与细胞周期

2.1 NOB1 参与泛素-蛋白酶体途径 泛素-蛋白酶体途径 (ubiquity-proteasome pathway, UPP), 泛素-蛋白酶体介导的蛋白质降解, 是许多重要的生物学过程调控中心, 包括细胞周期进程, 细胞凋亡和 DNA 修复, 26S 蛋白酶体通过调控识别和降解泛素化底物, 以维持正常的细胞生长, 蛋白酶体降解途径中断与大部分人类疾病有关联^[10]。在泛素-蛋白酶体依赖性的蛋白水解中, NOB1 蛋白的存在是必需的, NOB1 突变后可导致多聚泛素蛋白在细胞中沉积^[7]。负责细胞周期转换的细胞周期素 (cyclins) 和细胞周期素依赖性蛋白激酶 (cyclin-dependent kinases, CDKs) 是泛素-蛋白酶体系统调控着的两个重要因子, 此调控系统异常, 往往导致恶性肿瘤的发生^[11]。通过泛素-蛋白酶体系统 (UPS) 的细胞内蛋白质的降解是一个非常复杂的由时间严格调控的过程, 其在各种基本的细胞过程中扮演重要的角色。通过 UPS 的蛋白质降解的定位涉及两个离散和连续的步骤: (1) 到基板上的多个泛素基团的共轭, 生成泛素聚合物降解信号; (2) 通过释放自由和可重复使用的泛素而破坏下游 26s 蛋白酶复合体的标记蛋白, 是一个通 DUB 酶的催化反应。由于存在许多有针对性的基板和其所涉及的种种过程, 在许多疾病的发病机理中已经显示出通路的畸变。这些疾病包括某些恶性肿瘤、免疫反应和炎症反应的紊乱以及神经退行性疾病。同样, 系统活动获得性改变也可以逐渐发展成某些病理变化。与泛素系统相关的病理状态, 一般可以分为两类: (1) 那些因泛素系统酶或标记基板功能损失的突变, 导致某些蛋白质的稳定的结果; (2) 那些从增益功能异常或加速降解目标蛋白导致的结果^[12]。泛素-蛋白酶体系统 (UPS) 现在被认为是存在于真核细胞中的短暂的、错误折叠或截断的蛋白的主要周转系统。定向蛋白必须成为一个聚泛素链的共轭而被蛋白酶体识别, 其中包括一系列由许多酶类和蛋白因子参与的步骤。泛素共轭或泛素化是一个高度有序的过程, 在一个泛素激活酶 (E1) 的第一个激活和转移泛素到泛素结合酶 (E2), 然后与 E3 连接酶在中心活化, 再转移泛素到赖氨酸残基到目标基板上。一条被 26s 蛋白酶复合体识别底物的链至少有 4 个泛素基团链是必需^[13]。

2.2 ZNRD1 与细胞周期调节因子的关系 过去 15 年的研究表明, 哺乳动物的细胞周期是由细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDKs) 的活动所控制的。在 G1 期的 CDKs 的一个关键基板是视网膜母细胞瘤抑制基因 (PRB), 其增殖的抑制主要是通过抑制 E2F 转录因子的活性。最近的研究表明, 细胞周期也是两个泛素连接酶 (简称 SCF 和 APC/C 连接酶) 起重要作用的一个过程。CDKs、E2F 和泛素连接酶的彼此相互调节, 导致复杂的反馈环路。这种分子机器网

路系统的扰乱与包括癌症在内的增生性疾病有关^[14]。一个细胞周期的动力是细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDKs) 的活化, 其活化是由泛素介导的关键调节器蛋白质水解, 如细胞周期蛋白和 CDK 抑制剂的控制。两个泛素连接酶, SKP1-CUL1-F-(SCF) 蛋白复合体和细胞分裂后期促进复合体 (APC/C) 负责这些调节器中许多具体的泛素化。蛋白水解系统的异常, 可能会导致失控的增殖、基因组不稳定和癌症。临床研究积累的证据显示, 细胞周期调节器泛素化的改变是许多人类恶性肿瘤的病因^[15]。由此可见, ZNRD1 在细胞周期调节的过程中起重要作用。

3 NOB1 与肿瘤

3.1 NOB1 与卵巢癌的关系 卵巢癌是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一, 在妇科恶性肿瘤中其病死率居首位。由于目前对于卵巢癌的早期诊断缺乏有效的方法, 在我国卵巢癌的发病率呈现逐年升高的趋势。在过去对于卵巢癌的发生发展的研究及对其治疗方法的探索中, 基因治疗所取得的成效令人瞩目。卵巢癌的发生是与细胞增殖分化相关的癌基因、抑癌基因多阶段相互作用的、多基因调控的结果^[23]。目前我们认为肿瘤的发生与细胞周期有密切的关系, 它属于细胞周期性疾病, 其中 G1/S 期和 G2/M 期是细胞周期的两个关键调节位点; G1/S 调节位点在两者中起更重要的作用, 它不但可以决定细胞是继续增殖抑或进入 G0 期, 而且能主导细胞是否永久地离开细胞周期进入终末分化和死亡。在正常成人的肝、肺、脾等组织中 NOB1 基因表达量较高, 而在肾脏、前列腺、卵巢及结肠中 NOB1 处于低表达状态, 在心脏、脑组织、胸腺、胰腺、小肠、睾丸、胎盘、骨骼肌中则无表达^[2]。通过对卵巢癌肿瘤组织、良性肿瘤组织和正常卵巢组织中 NOB1 mRNA 表达的检测发现, 卵巢癌组织中 NOB1 mRNA 表达明显高于正常卵巢组织和良性肿瘤组织, 而后两者之间 NOB1 表达无显著差异。同时通过分析发现 NOB1 高表达与肿瘤的大小、细胞分化程度即恶性程度存在相关, 而与年龄、组织学分型、肿瘤分期无关^[17]。通过应用 RNA 干扰技术将 NOB1-siRNA 转染至卵巢癌细胞株 SKOV3 和 HEY, 发现细胞的生长和增殖均受到抑制, 这意味着 NOB1 基因可能与卵巢癌发生、发展相关, 而 NOB1 有望成为卵巢恶性肿瘤靶向治疗的新基因靶点。

3.2 NOB1 与其他肿瘤的关系 研究显示 Cyclin D1 能和 CDK4 结合, 形成 Cyclin D1/CDK4 复合物, 该复合物可以调节细胞周期, 使细胞停滞于 G1 期不进入 S 期, 从而失去了对细胞周期的负向调控, 促进了细胞增殖和肿瘤的发生^[18]。胰腺癌经常出现化疗抵抗, Hector 等^[19]通过建立小干扰 RNA 介导的敲除细胞周期蛋白 D1 的 ELA-myc 基因的胰腺肿瘤细胞株的实验研究表明: 在 ELA-myc 基因的胰腺肿瘤细胞株中, 细胞周期蛋白 D1 过表达促进细胞增殖和固定独立的生长。细胞周期蛋白 D1 的过度表达主要通过两个主要的作用来提高胰腺癌细胞株耐药性, 即促进细胞增殖和抑制药物诱导的细胞凋亡。NOB1 基因中的 ZNRD1 在 G1 期调节点发挥重要作用, 其可通过下调细胞周期蛋白 D

而使细胞的分裂停留在 G1 期,从而达到阻止细胞的增殖。有研究表明,靶向细胞周期蛋白 E-CDK-2 复合体,通过触发细胞凋亡的多极化诱导而产生显著的生长抑制。应用 CDK-2 激酶抑制 seliciclib 的治疗可减少小鼠同源肺癌模型中肺癌的形成,并降低自发性肺部发育不良的细胞周期蛋白 E 驱动的转基因小鼠模型中的增殖标记物 Ki-67 和细胞周期蛋白 D1 免疫组织化学表达。seliciclib 与紫杉烷结合可导致肺癌细胞生长抑制的增强和肺癌细胞凋亡^[20]。通过分析 NOB1 在细胞周期的调节中所起的作用,以及 ZNRD1 与细胞周期调节因子之间的作用关系,从而可推断出 NOB1 与肿瘤的发生存在一定关系的结论。细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)通过由 CDK 活化激酶(CAK, 细胞周期 H/cdk7/MAT1)促发的积极磷酸化作用调控,同时也受到相关的细胞周期蛋白和内源性 CIP/KIP 或 INK4 抑制剂(CDK4 抑制剂)引起的消极磷酸化作用的调控。CDKs 和调节器表达的改变,包括细胞周期蛋白的过度表达和 CDK 抑制剂的表达缺失,恶性细胞可出现增长优势。因此,NOB1 在细胞周期进程和细胞转录和其在细胞凋亡途径相关环节起极其重要的作用^[18]。有研究表明,ZNRD1 在胃癌、食管癌和正常胃、食管上皮细胞均存在表达,但 ZNRD1 在胃、食管癌组织中的表达明显低于正常胃、食管组织上皮细胞,且随着癌组织分化程度的降低 ZNRD1 的表达逐渐减少^[16,21],从而认为 NOB1 基因与胃癌、食管癌的发生有密切关系。研究显示,应用 RNA 干扰技术将 NOB1-shRNA 转染至人肝癌细胞株 SMMC-7721,发现通过干扰 NOB1 后,SMMC-7721 细胞的生长活性、增殖能力得到有效的抑制^[22],提示 NOB1 是人肝癌致瘤质的一个重要的调节点,有望成为肝癌肿瘤基因靶向治疗的新靶点。但目前对 NOB1 基因的研究仍处于初级阶段,关于其在肿瘤发生发展中的作用报道较少见。

4 结语及展望

NOB1 基因通过调节基因的转录参与肿瘤的发生和发展,在恶性肿瘤的发生中起重要作用。卵巢癌的基因治疗为当前极具前景的治疗方式,深入认识和了解 NOB1 基因的作用对于卵巢癌的靶向基因治疗十分重要,但目前对 NOB1 基因的研究仍处于早期阶段,NOB1 在卵巢癌以及其他肿瘤的发生、发展过程中的分子机制仍不十分明确,仍然需要更多的后续研究。希望通过广大研究人员对 NOB1 基因在肿瘤中蛋白水平改变以及详细分子作用机制的研究探索,为恶性肿瘤的临床诊治提供新的调控靶点和线索。

参 考 文 献

- [1] Tone Y, Tanahashi N, Tanaka K, et al. Nob1p, a new essential protein, associates with the 26S proteasome of growing *Saccharomyces cerevisiae* cells [J]. *Gene*, 2000, 243(1-2): 37-45.
- [2] Zhang Y, Ni J, Zhou G, et al. Cloning, expression and characterization of the human NOB1 gene [J]. *Mol Biol Rep*, 2005, 32(3): 185-189.
- [3] Lamanna AC, Karbstein K. Nob1 binds the single-stranded cleavage site D at the 3'-end of 18S rRNA with its PIN domain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(34): 14259-14264.
- [4] Fatica A, Oeffinger M, Dlakió M, et al. Nob1p is required for cleavage of the 3'-end of 18S rRNA [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(3): 1798-1807.
- [5] Woolls HA, Lamanna AC, Karbstein K. Roles of Dim2 in ribosome assembly [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(4): 2578-2586.
- [6] Bushnell DA, Westover KD, Davis RE, et al. Structural basis of transcription; an RNA polymerase II - TF II B cocrystal at 4.5 angstroms [J]. *Science*, 2004, 303(5660): 983-988.
- [7] 董波, 邹绍武, 艾开兴. NOB1 基因与肿瘤 [J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32(4): 432-434.
- [8] 艾军魁, 张志文, 辛殿棋, 等. 抑制消减杂交结合 cDNA 微阵列技术鉴定人肾癌组织高表达基因谱 [J]. *中国科学 C 辑*, 2003, 33(5): 436-445.
- [9] 裴振, 霍小蕾, 李代强. NOB1 基因及其与肿瘤的研究进展 [J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2011, 32(22): 3688-3689.
- [10] Wang X, Guerrero C, Kaiser P, et al. Proteomics of proteasome complexes and ubiquitinated proteins [J]. *Expert Rev Proteomics*, 2007, 4(5): 649-665.
- [11] Yamasaki L, Pagano M. Cell cycle, proteolysis and cancer [J]. *Curr Cell Biol*, 2004, 16(6): 623-628.
- [12] Ciechanover A, Brundin P. The Ubiquitin proteasome system in neurodegenerative diseases [J]. *Neuron*, 2003, 40(2): 427-446.
- [13] Gao X, Hu H. Quality control of the proteins associated with neurodegenerative diseases [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2008, 40(7): 612-618.
- [14] Yamasaki L, Pagano M. Cell cycle, proteolysis and cancer [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16(6): 623-628.
- [15] Nakayama KI, Nakayama K. Ubiquitin ligases: cell-cycle control and cancer [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2006, 6(5): 369-381.
- [16] Hong L, Chen Z, Zhang X, et al. Zinc ribbon domain containing 1 protein: modulator of multidrug resistance, tumorigenesis and cell cycle [J]. *Exp Oncol*, 2006, 28(4): 258-262.
- [17] Lin Y, Peng S, Yu H, et al. RNAi-mediated downregulation of NOB1 suppresses the growth and colony-formation ability of human ovarian cancer cells [J]. *Med Oncol*, 2011.
- [18] 乔文辉, 胜利. Cyclin D1, P53 和 CDK4 蛋白与胰腺癌的相关性 [J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(30): 3460-3463.
- [19] Hector Biliran, Jr. Yong Wang, Sanjeev Banerjee, et al. Overexpression of cyclin D1 promotes tumor cell growth and confers resistance to cisplatin-mediated apoptosis in an elastase-myc transgene expressing pancreatic tumor [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(16): 6075-6086.
- [20] Galimberti F, Thompson SL, Liu X, et al. Targeting the cyclin E-Cdk-2 complex represses lung cancer growth by triggering anaphase catastrophe [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(1): 109-119.
- [21] Zhao Y, Hong L, Wang R, et al. Expression and prognostic value of ZNRD1 in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2009, 5(3): 586-592.
- [22] Lu Z, Guo Q, Shi A, et al. Downregulation of NIN/RPN12 binding protein inhibit the growth of human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 15. [Epub ahead of print]
- [23] 白月, 张林燕. 卵巢癌相关基因的研究现状 [J]. *中外医疗*, 2010, 13: 186-187.