

致癌基因CUG2的研究进展

廖长春, 祝新根

Advances of Oncogene Cancer-up-regulated Gene 2(CUG2)

LIAO Changchun, ZHU Xingen

Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital of Nanchang University;
Nanchang 330006, China

Corresponding Author: ZHU Xingen, E-mail: zxc2008vip@163.com



Abstract: CUG2 (cancer-up-regulated gene 2) protein, also known as centromere protein W(CENP-W), is a novel nuclear protein. Recent studies show that it is indispensable to cell division and apoptosis, and is commonly up-regulated in many cancer tissues, such as rectal colon and stomach cancers. CUG2 is also believed to act as an oncogene. Localized specifically on the centromere or nucleolus, CUG2 could combine with CENP-T and takes a part in the establishment of centromere chromatin structure. In this paper we will review briefly the advanced studies on CUG2, including its discovery, structural features, biological function and the relationship between CUG2 and cancer.

Key words: CUG2 protein; Centromere protein W(CENP-W); Cancer; Oncogene

摘要: CUG2蛋白, 又称着丝粒蛋白W, 是一种近期发现的核蛋白, 研究发现CUG2为细胞分裂、细胞凋亡等过程所必需, 在许多癌组织中都存在高表达, 如结肠直肠癌及胃癌, 被预测是一种致癌基因。它位于核仁上或者着丝粒上, 能和着丝粒蛋白T相互结合, 共同参与着丝粒染色质结构的形成。现概要介绍CUG2基因的发现、结构特点、生物学功能及其与肿瘤之间关系的最新进展。

关键词: CUG2蛋白; 着丝粒蛋白W; 肿瘤; 致癌基因

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A

0 引言

目前, 人类已经发现了超过100种致癌基因, 这些基因对细胞的功能都有着不同的影响, 涉及了不同肿瘤的发生、发展^[1]。肿瘤是超过正常限度生长的组织, 其发生发展与转移受诸多因素的影响, 在肿瘤的形成过程中, 致癌基因的异常扩增及表达是其中最重要的特征之一^[2]。越来越多致癌基因的发现为人类抵抗癌症提供了重要的方向。最近, 韩国学者Lee等^[3]发现了一种名为CUG2的致癌因子, 它普遍高表达于人体各种肿瘤中, 能够促进细胞的异常增殖, 致使肿瘤形成, 本文将围绕CUG2的分子结构、功能机制和前景等将近年来相关最新研究进展予以综述。

1 CUG2基因概述

1.1 CUG2的发现及其分子结构

2007年, Lee等^[3]为发现新的致癌基因, 寻找

新的抗癌药物靶点进行了一系列的实验。他们选取来自人类身上的11种部位的恶性肿瘤组织(共300个样本)为试验对象, 利用各种实验手段从Affymetrix基因芯片中筛选, 结果发现其中一种基因在卵巢、肝脏、肺、胰腺和结肠等恶性肿瘤组织普遍高表达, 取名CUG2。

人属CUG2的分子量约10 kDa, 其mRNA的全长大小约600 bp, cDNA的大小约531 bp, 含有一个能编码88个氨基酸多肽的长度为267 bp的ORF, 这个ORF上游存在一个终止密码子, 另外此ORF还存在一个多聚腺苷酸尾端。人类CUG2位于6q22.32, ID: 387103, 扩展长度约8.5 kb, 其中含有三个外显子。CUG2蛋白和其他一些目前已知的重要蛋白没有什么重要的同源性, 也没有什么重要的值得注意的功能区域, 但是与DR1(down-regulator of transcription 1)存在微弱的同源性(27%), DR1是一种基础转录抑制因子, 这也表明CUG2与细胞的转录调节密不可分。另外, CUG2蛋白位于细胞核内, 是肿瘤发生过程中的一种重要的转录调节因子。

1.2 CUG2蛋白是一种着丝粒蛋白

着丝粒^[4]是一个特殊的染色质区域, 内含许多卫星RNA及一些特殊蛋白成分, 例如以组蛋白

收稿日期: 2014-03-08; 修回日期: 2014-08-04

基金项目: 江西省自然科学基金(20132BAB205043)

作者单位: 330006 南昌, 江西省南昌大学第二附属医院

神经外科

通信作者: 祝新根, E-mail: zxc2008vip@163.com

作者简介: 廖长春(1986-), 硕士在读, 主要从事神经胶质瘤相关研究

H3型CENP-A^[5]为主架的蛋白复合物, 另外还包括如CENP-T、CENP-S、CENP-X、CENP-C、CENP-I、CENP-H和Mis12等, 这些成分都彼此互补, 不可或缺。最新研究表明, CUG2蛋白也是着丝粒蛋白复合物的成员之一, 它与CENP-T结合形成CENP-W (即CUG2) /CENP-T复合物, 对着丝粒的结构和功能^[6-7]都起到了重要的作用, 于是后来有人又将CUG2称为CENP-W^[3,8]。如果使用CUG2 siRNA对海拉细胞的CUG2进行敲除, 可以发现CUG2 siRNA转染后海拉细胞出现大量明显的死亡, 同时细胞出现多极纺锤体和染色体错位等异常染色体结构。

2 CUG2与肿瘤

2.1 CUG2在肿瘤中的表达

CUG2蛋白在细胞的有丝分裂中起到重要的调节作用, 但研究表明CUG2蛋白的表达失调与肿瘤密切相关, Lee等^[3]发现CUG2的表达水平在卵巢恶性肿瘤中为正常卵巢组织的6.3倍, 在肝癌中为正常肝组织的6.0倍, 肺癌4.9倍, 胰腺癌3.8倍, 乳腺癌2.0倍, 胃肠道肿瘤如结肠癌为2.1倍, 直肠癌2.2倍, 胃癌为2.6倍, 同时他们又使用实时定量PCR技术来检测之前的实验结果是否正确, 他们把CTBP1基因作为对照, 结果发现CUG2在大部分癌组织都是高表达, 其中肺癌中为11.5倍, 肝癌中为7.6倍, 胃癌中为3.9倍, 卵巢恶性肿瘤中为3.9倍, 结肠癌中为2.2倍, 成功地验证了之前实验的结果, CUG2的表达在正常组织中处于一种稳定的水平, 多数恶性肿瘤中CUG2的表达水平明显升高, 同时在不同的癌组织中表达水平不一致, 这可能与CUG2基因的异常激活有关, 提示CUG2可能参与了肿瘤的发生, CUG2表达上调与各种肿瘤的发生密切相关。

2.2 CUG2与肿瘤发生的关系

Lee等^[3]将CUG2基因重组到NIH3T3细胞 (小鼠胚胎成纤维细胞) 之中, 使其高表达CUG2蛋白, 结果惊奇地发现CUG2-NIH3T3细胞和空白对照组相比生长明显加快, 并发现有些细胞出现肿瘤发生的表型。另外, 软琼脂克隆实验发现CUG2-NIH3T3细胞株明显比对照组生长快。与此同时, CUG2-NIH3T3细胞的一些转移特性, 如细胞的侵袭力、运动能力明显增强, 在克隆形成实验中, CUG2-NIH3T3细胞的在细菌培养皿中的密度极其高, 暗示着CUG2蛋白的高表达使小鼠胚胎成纤维细胞失去了细胞接触抑制, 小鼠胚胎成纤维

细胞才得以相对无限制生长。

另外, 科学家还进行了一个有趣的体内实验, 他们重组并培养出一株能稳定表达CUG2的NIH3T3细胞株, 并将它们分别注射到A组小鼠的皮下, 将能稳定表达致癌基因H-ras的NIH3T3细胞株分别注射到B组小鼠的皮下, 另外还设置了C组作为第二对照组, 注射的是普通的NIH3T3细胞株。结果显示, A组的小鼠在注射后4周内全部发现开始生长肿瘤, B组的小鼠5周后才发现有肿瘤形成, 而C组小鼠10周内都不见明显的肿瘤生长。A组小鼠生长的肿瘤大小约是B组的1.5倍。

所以, CUG2与肿瘤的形成存在重要的关系, CUG2可能是一种致癌因子, 同时可能是转录调节系统中的某一成员, 能消除细胞对转录调节的管制, CUG2的过度表达可以使细胞之间失去接触抑制, 影响细胞分裂, 诱导肿瘤的发生。

2.3 CUG2参与肿瘤发生发展的信号通路或机制

CUG2在肿瘤的发生发展过程中究竟扮演什么角色至今尚不是很清楚, 可能通过以下几个方面的作用参与和调节肿瘤发生过程。

(1) CUG2可能激活MAPK (ERK, JNK和p38)、Src激酶和Ras信号通路。2010年, Park等^[9]研究者用呼吸道肠道病毒去感染小鼠胚胎成纤维细胞NIH3T3, 结果意外地发现和空白对照组相比, CUG2过量表达的NIH3T3细胞中ras蛋白明显激活, 且ERK、JNK和p38、Src激酶等水平明显升高, 另外, 部分人在其他一些癌组织中也检测出ras、p38、Src激酶水平的升高。故推测, CUG2蛋白的过量表达可能激活ras的异常表达, 激活ras信号途径、MAPKs, 导致细胞恶性转化, 引起肿瘤的发生。

(2) CUG2的过量表达可引起自噬现象的发生, 而自噬在肿瘤的发生、发展信号通路中起重要作用^[10-12]。2014年Malilas等^[13]报道, CUG2能使细胞产生对溶瘤细胞的水泡性口炎病毒的耐受。他们用Atg5或者Beclin1 siRNA处理A549-CUG2细胞, 损害细胞自体吞噬功能, 结果可以引起大量活性氧 (ROS) 的形成, 减少S6蛋白激酶的活性和ISG15的表达, 从而增加了CUG2高表达细胞对VSV的易感性, 从而推测, CUG2过量表达导致细胞中自噬现象比正常细胞活跃, 因此认为CUG2在肿瘤细胞的发生、发展和死亡的过程中扮演着十分重要的角色。

另外, CUG2蛋白已经明确是一种着丝粒蛋白, 对纺锤体的附着等有丝分裂有重要作用,

CUG2蛋白的过度表达可能引起细胞分裂加速,当然,当前关于CUG2的致癌机制现处于一种猜测状态,其具体致癌机制需进一步研究。

3 CUG2与其他一些因子的相互联系

3.1 STAT1

研究表明,CUG2蛋白可以激活JAK-STAT1途径^[14-15],从而激活STAT1,但是目前对CUG2如何激活JAK-STAT1途径的具体机制还不太明确,但研究表明CUG2会引起STAT1的激活,和I类INF诱导的JAK-STAT1信号途径相吻合,STAT1的激活催化OASL2进行转录,产生抗病毒相关蛋白,从而能促使细胞抵抗病毒。2013年Malilas在研究中发现,CUG2过度表达的细胞在对抗VSV^[14,16]病毒的感染时能产生STAT1高水平的活化,促导OASL2的转录,从而产生大量的抗病毒蛋白,对VSV病毒产生较高的抵抗能力。STAT1抑制剂和OASL1抑制剂都会引起细胞对VSV病毒的抵抗力。更有趣的是,用正常VSV病毒感染由CUG2诱导的肿瘤,肿瘤的大小和生长速度明显受到抑制,说明VSV可能对CUG2高表达肿瘤的治疗有重要意义。

3.2 Sp1、Sp3

Sp1^[17-18]是一种普遍表达转录因子,与人类的癌症密切相关,可以作为管家基因和其他少TATA序列基因的激活因子,调节细胞周期中的一些基因或蛋白等重要成分,影响肿瘤的生长、转移,比如细胞周期蛋白、细胞周期抑制剂、c-myc癌基因、囊上皮生长因子等。另外,Sp1又与各种翻译后的蛋白修饰有关,有助于转录活动的精确调节。研究表明,CUG2上游有一个启动子,它含TATA序列比较少,并发现其-46到-36的位置上存在一个富含GC序列的Sp1结合位点,对CUG2蛋白的表达至关重要。Sp1和Sp3^[19]均能与CUG2的结合位点结合,调节启动子活性,进而调节CUG2的转录,Sp1是CUG2的主要转录调节因子,而Sp3也有相同功能,但主要是起辅助作用。Kim等^[17]于2010年进行了一系列实验,结果表明Sp1和Sp3的协同作用,共同调节CUG2蛋白的基础表达。他们还发现Sp1抑制剂光神霉素和Sp1 siRNA和Sp3 siRNA能使CUG2的启动子活性明显受到抑制,另外,Sp1和Sp3在血清丝裂原诱导的CUG2蛋白表达过程起重要的调节作用。

3.3 NPM/B23

CUG2蛋白不仅位于着丝粒上,还有部分CUG2蛋白位于核仁上,与核仁B23^[20]蛋白紧密

结合。B23蛋白是真核细胞核仁的主要蛋白组分之一,对于维持核仁的结构和功能都起着重要作用。CUG2蛋白是一种相对较小的蛋白,但是其蛋白N端的近三分之二的功能结构区域都能与B23结合,CUG2蛋白与核仁B23的结合能维持CUG2蛋白的稳定性,如果将B23敲除,CUG2以及CENP-T的稳定都会出现明显的下降,并出现分裂后期核仁区CUG2位置的病理性改变。所以,B23蛋白可能存在可能是CUG2蛋白进入核仁的结合位点。但是相关研究表明B23有时候存在于着丝粒当中,与CUG2在着丝粒中的分布相似,同时在分裂中期参与着丝粒蛋白复合物和染色质相关成分的形成,B23是功能性着丝点的形成所必需的,B23功能异常将导致着丝粒功能缺陷。由此表明,CUG2与B23之间可以相互稳定,存在密不可分的关系,但之间的具体作用机制有待进一步的研究。CUG2与B23之间的重要关系表明,B23及NPM可能是治疗CUG2高表达癌症的靶向。

3.4 caspase 3、caspase 8

研究表明CUG2的过度表达也可以诱导caspase 3和caspase 8的激活,诱导细胞凋亡途径。caspase 3最主要的底物是多聚(ADP-核糖)聚合酶PARP,该酶与DNA修复、基因完整性监护有关。被激活的caspase 3将PARP剪切成两个片段,使PARP中与DNA结合的两个锌指结构与羧基端的催化区域分离,不能发挥正常功能。结果使受PARP负调控影响的Ca²⁺/Mg²⁺依赖性核酸内切酶的活性增高,裂解核小体间的DNA,引起细胞凋亡。caspase 8则被活化后作用于胞质中其他ICE(IL-1 β 转化酶)家族蛋白酶,ICE又称“死亡蛋白”,活化的caspase 8是ICE家族蛋白酶逐级活化,最终引起细胞凋亡。2010年, Lee等^[21]实验发现,CUG2的过度表达可以诱导SKOV-3细胞的凋亡,他们在细胞株中证实caspase 3、caspase 8、PARK-1等的水平都明显升高,且发现CUG2高表达诱导过程中细胞色素C大量从线粒体中转移到细胞质中,进一步阐明CUG2高表达可激活细胞凋亡信号途径诱导细胞凋亡。

CUG2高表达既能促进细胞增殖,同时又可以促进细胞凋亡,这种双重作用可能有以下两种解释:第一,人体正常细胞的数量在增殖、分化、生长停滞和凋亡中维持着动态的平衡,细胞过程中任何内稳态的异常都会激活细胞恢复系统或者细胞凋亡系统,有研究表明,异常促有丝分裂信号会激活细胞周期停滞和细胞程序性死亡,维持细胞内动态平衡,如ras和myc都可以促发细胞

内故障安全装置最终诱导细胞凋亡^[22-24]；第二，CUG2本身可能是一种激活抗肿瘤途径的物质，研究表明，野生型ras可以逆转癌细胞表型^[25]，另外，CUG2基因位于6q22，6q的变异缺失是卵巢恶性上皮癌和卵巢腺癌的普遍特征，故推测CUG2与细胞凋亡密不可分，另外CUG2可能与卵巢癌的形成也有着密切的联系。

4 问题及展望

CUG2作为一种刚发现不久的具有双重特性的致癌基因，对细胞的信号转导及其他一些生物过程有着复杂而重要的作用。CUG2的过度表达可以引起体外细胞的肿瘤性生长，在体内可以诱导肿瘤的发生。CUG2是着丝粒蛋白复合物的的重要组成部分，对细胞的有丝分裂有重要的调控作用，CUG2功能的缺失会引起细胞的死亡，使细胞内出现多极纺锤体和染色体错位等异常染色体结构。另外，CUG2和许多其他致癌基因相似，不仅具有促进细胞增殖的作用，还可以激活细胞凋亡程序，导致细胞凋亡。

CUG2被证实普遍高表达于各种人体恶性肿瘤中，即有可能作为某些肿瘤的诊断指标，但是目前对CUG2的研究还处在起步阶段，对具体某一种肿瘤、癌前病变组织中CUG2表达水平的检测缺乏大量的临床证据，现阶段难以应用于临床。笔者认为，如果可以精确快速简便地检测CUG2的表达以及大量研究肿瘤形成过程中CUG2表达水平的变化，如慢性胃溃疡恶化形成胃癌过程以及其他一些癌前病变演变成癌的过程中CUG2表达的变化，收集更多证据，一定可以为临床上某些肿瘤的早期诊断提供依据。

进一步研究CUG2的分子机制及其在致癌过程中的作用、与其他基因或者蛋白的相互作用，对于在基因水平对肿瘤的诊断、治疗和预后判断有重要的临床意义，也为开发新的抗肿瘤药物，指导临床治疗提供新的思路。

参考文献：

- [1] Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control[J]. *Nature medicine*, 2004, 10(8): 789-99.
- [2] Varmus HE. Oncogenes and transcriptional control[J]. *Science*, 1987, 238(4832): 1337-9.
- [3] Lee S, Gang J, Jeon SB, *et al.* Molecular cloning and functional analysis of a novel oncogene, cancer-upregulated gene 2 (CUG2)[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 360(3): 633-9.
- [4] Przewlaka MR, Glover DM. The kinetochore and the centromere: a working long distance relationship[J]. *Ann Rev Genet*, 2009, 43: 439-65.
- [5] Earnshaw WC, Allshire RC, Black BE, *et al.* Esperanto for histones: CENP-A, not CenH3, is the centromeric histone H3 variant[J]. *Chromosome Res*, 2013, 21(2): 101-6.
- [6] Kim HT, So JH, Jung SH, *et al.* Cug2 is essential for normal mitotic control and CNS development in zebrafish[J]. *BMC Dev Biol*, 2011, 11: 49.
- [7] Gonçalves Dos Santos Silva A, Sarkar R, Harizanova J, *et al.* Centromeres in cell division, evolution, nuclear organization and disease[J]. *J Cell Biochem*, 2008, 104(6): 2040-58.
- [8] Prendergast L, van Vuuren C, Kaczmarczyk A, *et al.* Premitotic assembly of human CENPs-T and -W switches centromeric chromatin to a mitotic state[J]. *PLoS Biol*, 2011, 9(6): e1001082.
- [9] Park EH, Park EH, Cho IR, *et al.* CUG2, a novel oncogene confers reoviral replication through Ras and p38 signaling pathway[J]. *Cancer Gene Ther*, 2010, 17(5): 307-14.
- [10] Roy R, Kumar D, Chakraborty B, *et al.* Apoptotic and autophagic effects of *Sesbania grandiflora* flowers in human leukemic cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71672.
- [11] Pavlides S, Tsigos A, Migneco G, *et al.* The autophagic tumor stroma model of cancer: role of oxidative stress and ketone production in fueling tumor cell metabolism[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(17): 3485-505.
- [12] Martinez-Outschoorn UE, Whitaker-Menezes D, Pavlides S, *et al.* The autophagic tumor stroma model of cancer or "battery-operated tumor growth": a simple solution to the autophagy paradox[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(21): 4297-306.
- [13] Malilas W, Koh SS, Lee S, *et al.* Suppression of autophagic genes sensitizes CUG2-overexpressing A549 human lung cancer cells to oncolytic vesicular stomatitis virus-induced apoptosis[J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(4): 1177-84.
- [14] Malilas W, Koh SS, Srisuttee R, *et al.* Cancer upregulated gene 2, a novel oncogene, confers resistance to oncolytic vesicular stomatitis virus through STAT1-OASL2 signaling[J]. *Cancer Gene Ther*, 2013, 20(2): 125-32.
- [15] Lu B, Antoine DJ, Kwan K, *et al.* JAK/STAT1 signaling promotes HMGB1 hyperacetylation and nuclear translocation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(8): 3068-73.
- [16] Malilas W, Koh SS, Kim S, *et al.* Cancer upregulated gene 2, a novel oncogene, enhances migration and drug resistance of colon cancer cells via STAT1 activation[J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(4): 1111-6.
- [17] Kim H, Lee S, Park B, *et al.* Sp1 and Sp3 mediate basal and serum-induced expression of human CENP-W[J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(7): 3593-600.
- [18] Stennicke HR, Jürgensmeier JM, Shin H, *et al.* Pro-caspase-3 is a major physiologic target of caspase-8[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(42): 27084-90.
- [19] Franzke N, Koehler S, Middel P, *et al.* Localization of active Caspase-3 and Caspase-8 in nasal polyps and nasal hyperplasia in consideration of mast cell function: a semiquantitatively analysis[J]. *Int J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2012, 1: 63-70.
- [20] Chun Y, Park B, Koh W, *et al.* New centromeric component CENP-W is an RNA-associated nuclear matrix protein that interacts with nucleophosmin/B23 protein[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(49): 42758-69.
- [21] Lee S, Koh W, Kim HT, *et al.* Cancer-upregulated gene 2 (CUG2) overexpression induces apoptosis in SKOV-3 cells[J]. *Cell Biochem Funct*, 2010, 28(6): 461-8.
- [22] Green DR, McGahon A, Martin SJ. Regulation of apoptosis by oncogenes[J]. *J Cell Biochem*, 1996, 60(1): 33-8.
- [23] Labazi M, Phillips AC. Oncogenes as regulators of apoptosis[J]. *Essays Biochem*, 2003, 39: 89-104.
- [24] Harrington EA, Fanidi A, Evan GI. Oncogenes and cell death[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 1994, 4(1): 120-9.
- [25] Spandidos DA, Sourvinos G, Tsatsanis C, *et al.* Normal ras genes: their onco-suppressor and pro-apoptotic functions(review)[J]. *Int J Oncol*, 2002, 21(2): 237-41.

[编辑：邱颖慧；校对：周永红]