

Research progress on N-myc Downstream Regulatory Gene NDRG1

Junxiu Liu Qiongge Wang Yalun Guo Chanchan Hu*

Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei, 067000, China

Abstract

NDRG1 (N-Myc downstream regulated gene 1 differentiation related gene 1), as a member of NDRG protein family, has attracted the attention of experts and scholars in recent years. Many scholars have carried out a lot of experiments from different aspects to confirm that NDRG 1 gene is expressed in a variety of tumor tissues. Studies have shown that NDRG 1 gene affects cell growth and development by regulating cell proliferation, cell cycle and other processes, and is closely related to the occurrence, development and prognosis of many kinds of tumor cells. At the same time, it may also participate in the stress response, the action of hormones, the hypoxia process of tissues, the differentiation of central nervous system. NDRG 1 may be a novel biomarker for tumors or a therapeutic target for tumors. This paper will reviews the research progress of this gene.

Keywords

NDRG1 gene; malignant tumor; biological behavior

N-myc 下游调节基因 NDRG1 的研究进展

刘俊秀 王琼鸽 郭亚伦 胡潺潺*

承德医学院附属医院, 中国·河北承德 067000

摘要

NDRG1 (N-myc downstream regulated gene 1, 分化相关基因1) 作为NDRG蛋白家族的成员之一, 近年备受专家学者的关注, 不少学者从不同方面对其进行了大量实验, 用以证实NDRG1基因在多种肿瘤组织中均有所表达。研究表明, NDRG1基因通过调节细胞增殖、细胞周期等过程影响细胞的生长和发育, 与多种肿瘤细胞的发生、发展和预后密切相关。同时它还可能参与了应激反应、激素的作用、组织的缺氧过程、中枢神经系统的分化等。NDRG1可能成为肿瘤的新型生物标志物或肿瘤的治疗靶点, 论文针对该基因的研究进展进行综述。

关键词

NDRG1基因; 恶性肿瘤; 生物学行为

1 引言

恶性肿瘤是影响人类生命健康的重要原因之一。其中肿瘤的复发和转移是影响其疗效的主要因素。NDRG1 (N-myc downstream regulated gene 1, 分化相关基因 1) 作为近年来研究的细胞分化基因, 其有肿瘤的生长、分化和转移均存在相关性。各国研究者对 NDRG1 进行了大量研究。论文将针对该基因的研究进展进行综述。

2 NDRG1 的命名

NDRG1 基因最初是在 N-myc 敲除的小鼠胚胎组织中发现的, 因受 N-myc 的抑制而得名^[1]。后多名学者相继独立发

现并成功分离出了该基因, 因此其名称具有多重性: 在人类有还原剂和链霉素敏感蛋白 (reducing agents and tunicamycin responsive protein, RTP)、分化相关基因 (differentiation related gene 1, Drg1)、钙激活蛋白 (calcium activated protein, Cap43)、在小鼠有 N-myc 下游抑制基因 1 (Ndr-1) 等。近年来人类基因组组织 (human gene organization, HUGO) 基因命名委员会正式将基因统一命名为 NDRG1。

3 NDRG1 的分子结构及编码产物

NDRG1 是 NDRG 蛋白家族的成员之一, 其基因位于 8 号染色体 8q24.2 位点^[2,3]。该基因可编码一个 2997-bp 的 mRNA, 而该 mRNA 可被翻译成成熟的蛋白质, 包含 394 个氨基酸, 其蛋白分子量为 43kDa。

NDRG 家族中的成员都拥有一个由酯酶/脂肪酶/硫酸酯酶活性位点和一个包含约 220 个氨基酸的 α/β 水解酶折叠区组成的 DNA 结构域。存在 NDRG1 基因的细胞均包含由

【作者简介】刘俊秀 (1996-), 女, 中国河北沧州人, 在读硕士, 从事放射肿瘤研究。

【通讯作者】胡潺潺 (1981-), 女, 中国河北衡水人, 硕士, 副主任医师, 从事乳腺癌的综合治疗研究。

3个GTRSRSHTSE残基的10肽串联组成的重复序列和C端区域的一个磷酸antetheine附着点,以及 α/β 折叠的一个帽状结构域。此外,NDRG1还存在一个结合 Ni^{2+} 和 Cu^{2+} 的C端结构域,而该结构域被认为与NDRG1的表达、解毒有密切关系。

4 NDRG1 在细胞内定位

NDRG1基因最常见位于细胞的细胞质中。而它在细胞内的分布与细胞膜的类型有关^[4]。例如,NDRG1基因在肠和泌乳乳腺上皮细胞主要定位于细胞膜上,而在前列腺上皮细胞中则位于细胞核内,但在肾近端小管细胞中NDRG1基因却位于线粒体内膜中。NDRG1基因几乎没有可检测到的核定位信号,但在一些细胞的细胞核中却可观察到NDRG1的存在。此外,有研究推测NDRG1的磷酸化或其在与Hsc70等核蛋白的关联下可介导NDRG1进行核转位。同时DNA损伤和缺氧也可诱导NDRG1基因从细胞质转位到细胞核中,这提示NDRG1基因可能为应激反应基因。

5 调控 NDRG1 基因的表达

5.1 HIF-1 介导的 NDRG1 基因上调

HIF-1是一种由HIF-1 α 和HIF-1 β 亚基组成的异源二聚体蛋白^[5]。其中HIF-1 α 亚基受氧气利用率的调节。而在正常的氧水平下,HIF-1 α 亚基可被脯氨酰羟化酶prolyl 1 (PHD)的酶进行羟基化,为von Hippel-Lindau (VHL)蛋白创造信号,使其结合并随后激活泛素E3连接酶,从而导致HIF-1 α 的蛋白酶体降解。但HIF-1 β 亚基的表达却不受HIF-1 α 亚基修饰的影响。PHD的羟化酶能力是氧依赖性的。因此,当缺氧状态下氧水平较低时,HIF-1 α 不会被PHD进行羟基化修饰,并在缺氧条件下HIF-1 α 与HIF-1 β 亚基可形成异二聚体,从而形成HIF-1复合体。而HIF-1复合体经过核易位,可与各种基因启动子中的缺氧反应元件(HREs)结合。

NDRG1启动子上游含有两个HREs,可允许HIF-1复合物诱导NDRG1表达。并且prolyl 1 (PHD)还可将铁作为活性位点的一部分,这样当细胞中的铁水平耗尽时,酶就会失去活性,从而可模拟缺氧条件阻止HIF-1 α 的降解。使HIF-1 α 积累并形成HIF-1复合物,诱导NDRG1基因的表达。

5.2 非依赖 HIF-1 途径上调 NDRG1

上皮生长反应-1 (epithelial growth response-1, Egr-1) 转录因子已被证实可与NDRG1基因的启动子结合,并在缺氧条件下诱导NDRG1转录。此外,在慢性缺氧状态下,例如在肿瘤中, Ca^{2+} 可从细胞内释放,并通过转录因子AP-1诱导低氧基因(包括NDRG1基因)的表达。也有研究表明,真核启动因子3a (eIF3a)可以在缺铁或缺氧条件下引起的细胞应激形成应激颗粒并优先考虑NDRG1 mRNA的翻译^[6]。

5.3 其他物质调控 NDRG1 的表达

调控NDRG1表达的其他转录因子包括应答DNA损

伤的p53、v-ets禽成红细胞病毒E26癌基因同源物2 (ETS) 和PTEN (phos-phatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) 等^[7]。PTEN蛋白被证实可上调前列腺癌和乳腺癌细胞中NDRG1基因的表达,但在胰腺癌中观察到的却是相反的效果。据研究表明NDRG1基因可增加PTEN的表达。因此,可以推测这些分子之间可能建立了一个正反馈的循环。而NDRG1的表达也可通过其上游N-myc和C-myc被抑制^[8]。

6 NDRG1 的生物功能

目前对NDRG1的功能尚不十分清楚,但现有的研究结果主要有以下几个方面。

6.1 促进细胞生长、发育

He等^[9,10]用RT-PCR方法进行检测NDRG1基因在不同发育时期小鼠肝中的表达,结果表明NDRG1基因在胚胎的发生阶段发挥重要作用。研究中对细胞中的NDRG1的表达进行阻断,结果发现细胞的增殖周期发生明显变化。NDRG1基因可与着丝粒结合并稳定纺锤体结构,在细胞分裂过程中发挥作用。同时强有力的证据表明,NDRG1基因参与细胞的粘附功能,过表达的NDRG1可作用于细胞膜上,维持 β -catenin和E-cadherin性状,稳定了细胞之间的粘附连接作用,使细胞可保持非侵袭性的上皮表型^[11,12]。

6.2 与细胞缺氧相关

Ercin ME等分别在不同时间段的低氧条件下培养黑色素瘤细胞,实验表明随着时间的延长,黑色素瘤细胞中NDRG1表达上调。根据实验可以得出,NDRG1可能是对缺氧有反应的基因之一。何宜静等^[13]通过在常氧和缺氧不同条件下培养人胎盘滋养层细胞。并用RT-PCR和Western blot方法的得出缺氧条件下NDRG1 mRNA和蛋白表达水平升高。

6.3 NDRG1 与激素的关系

NDRG1已被证明是雄激素调节基因,其通过与热休克蛋白90 (HSP90) 和 β -catenin的相互作用与雄激素网络相连^[14]。Lim SC等^[15]选择特征良好的LNCaP PCa细胞类型进行NDRG1转染。并通过western blot得出雄激素对NDRG1基因的表达呈正相关关系。吴石佳等^[16]研究发现,NDRG1与ER、PR在乳腺癌组织的表达均呈正相关。

6.4 与抑癌基因有关

有报道表示P53^[17,18]self-renewal, and differentiation into multiple neural cell lineages. From a clinical point of view, GSCs have been reported to resist radiation and chemotherapy. GSCs are influenced by the microenvironment, especially the hypoxic condition. N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1 和PTEN^[19]可上调NDRG1基因的表达,而PTEN信号下游效应蛋白是AKT, AKT在调节细胞生长、存活、

细胞迁移和分化、细胞与器官大小控制、代谢等多种细胞活动中均起着关键性作用。同时, AKT可直接磷酸化MDM2和MDMX。而磷酸化的MDM2和MDMX与14-3-3蛋白结合, 导致MDM2-MDMX复合物的稳定, 从而介导p53的降解, 以保持细胞中p53的低水平。NDRG1基因可受到p53和PTEN的调节, 因此可推测, NDRG1可能是PTEN和p53下游调节通路中的一种蛋白酶基因, 也可能NDRG1基因通过p53基因和PTEN基因的调控, 参与抑制VEGF基因的表达, 从而可抑制肿瘤新生血管的生成, 进而抑制肿瘤的转移^[20]。免疫组化也同样证明前列腺癌、乳腺癌和子宫内膜癌中的PTEN和NDRG1基因的表达具有相关性^[21-22]。

6.5 NDRG1 基因与中枢神经系统的关系

NDRG1基因在大脑皮层中可强烈表达, 而NDRG家族的其他成员在发育过程中可在脊髓中表达。其中NDRG家族参与了中枢神经系统的分化。ITO H等^[23]one of the most aggressive primary brain tumors, requires identification of molecular pathways that critically regulate the survival and proliferation of GBM. Previous studies have reported that deregulated expression of N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1 利用免疫组化技术研究NDRG1蛋白的表达与GBM (glioblastoma) 患者生存时间之间的关系。实验数据表明肿瘤组织标本中NDRG1高表达患者的总生存期(OS)明显长于NDRG1低表达患者。此外, 在GBM患者中, NDRG1阳性细胞率与较长的生存时间呈正相关。Yang等人研究NDRG1基因的多态性, 发现NDRG1基因的多态性与胶质瘤发展风险之间存在一定的关系。此外, 使用人胶质瘤细胞系的实验发现, 在皮下肿瘤小鼠模型中, NDRG1过表达可抑制细胞增殖和侵袭从而抑制肿瘤的发生。从这些发现来看, NDRG1可被认为是神经胶质瘤中一种有效的肿瘤抑制因子。

7 NDRG1 与肿瘤发生、发展及转移的关系

7.1 肿瘤的发生和发展

NDRG1基因作为具有争议性的抑癌基因, 不少研究已证实NDRG1基因在多种组织中均有表达, 并在体外实验中证实其可以抑制肿瘤细胞的生长。针对多种瘤组织及癌细胞中NDRG1基因进行检测, 可发现其在瘤组织和癌细胞中均呈低表达, 而在NDRG1基因高表达时肿瘤生长出现明显抑制表现。将NDRG1 cDNA转染到肿瘤细胞株中, 发现NDRG1基因可引起肿瘤细胞株的生长抑制。Sevinsky CJ等^[24]人通过对改变NDRG1和未改变NDRG1病例中mRNA水平进行分析, 证实了NDRG1基因与侵袭性乳腺癌之间的联系。但也有学者认为NDRG1基因在癌组织和癌细胞中表达上调, 发挥着癌基因的作用。Aiwei Li等^[25]通过运用免疫组化的方法检测膀胱癌肿瘤组织中NDRG1基因的表达情况同时通过RT-

PCR和Western blotting的方法研究了NDRG1基因对上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响。得出NDRG1促进膀胱癌的EMT的结论^[26]。Shaohua Xu等^[27-29]systematic evaluation of the diagnostic and prognostic values of NDRG1 or NDRG2 expression in liver cancer is poorly investigated.\nMethod: The gene expression matrix of liver hepatocellular carcinoma (LIHC 检测肝癌细胞中NDRG1基因的mRNA的表达情况, 研究发现在肝癌细胞中该基因表达上调, 与正常的癌旁组织相比较有显著性差异。通过探讨NDRG1基因的表达与DNA修复和甲基转移酶基因的关系。我们发现在肝癌患者中NDRG1的表达与DNA修复基因和甲基转移酶基因有很强的正相关, 这表明NDRG1基因可能通过调节表观遗传状态间接影响肝癌的发生发展。推测出NDRG1基因在肝癌的发生发展过程中可能起到了促进作用。

7.2 与肿瘤的转移、侵袭及预后

不少学者认为NDRG1基因与肿瘤的侵袭、转移等有着更为密切的关系。WEI M等^[30]在结肠癌细胞中分别建立NDRG1敲除和NDRG1过表达的模型, 并通过Western blot分析证实NDRG1的表达, 发现敲除NDRG1的结肠癌细胞增殖能力得到了提高。而在迁移和侵袭实验中, 发现NDRG1基因的表达可能会抑制结直肠癌细胞的转移。王震等检测乳腺癌NDRG1基因的表达情况, 实验研究发现乳腺癌伴淋巴结转移中的NDRG1基因的表达率要低于无淋巴结转移。Han等通过对MDA-MB-231和T47D细胞进行RT-PCR检测NDRG1基因, 结果表明NDRG1基因与乳腺癌肿瘤的侵袭和转移能力密切相关。

8 结论

NDRG1基因作为近年来发现的一种与细胞分化相关的基因, 并在多个组织中均有表达且生物学行为复杂。NDRG1基因在肿瘤组织中的表达情况仍具有争议性, 该基因在肿瘤组织中发挥着抑癌基因作用还是促癌基因作用仍需要进一步研究。该基因在不同肿瘤组织中的表达具有差异性, 或者在肿瘤组织的不同阶段表达情况有所不同, 这同样需要进一步研究证实。NDRG1基因的表达受多种分化诱导剂的影响, 进而影响肿瘤细胞的分化、转移和生长。因此, 充分认识影响NDRG1基因的表达具有重要的意义。NDRG1基因作为与肿瘤相关的基因, 有望为肿瘤预防、临床诊断、预后及个体化治疗提供新的治疗策略, 并可能成为肿瘤靶向治疗的新靶点。

参考文献

- [1] BANDYOPADHYAY S, WANG Y, ZHAN R, et al. The Tumor Metastasis Suppressor Gene Drg-1 Down-regulates the Expression of Activating Transcription Factor 3 in Prostate Cancer[J]. Cancer Research, 2006,66(24):11983-11990.
- [2] JOSHI V, LAKHANI SR, MCCART REED AE. NDRG1

- in Cancer: A Suppressor, Promoter, or Both?[J]. *Cancers*, 2022,14(23):1-15.
- [3] CHEKMAREV J, AZAD MG, RICHARDSON DR. The Oncogenic Signaling Disruptor, NDRG1: Molecular and Cellular Mechanisms of Activity[J]. *Cells*, 2021,10(9):1-30.
- [4] PARK K C, PALUNCIC J, KOVACEVIC Z, et al. Pharmacological targeting and the diverse functions of the metastasis suppressor, NDRG1, in cancer[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020,157:154-175.
- [5] ERCIN ME, BOZDOĞAN Ö, ÇAVUŞOĞLU T, et al. Hypoxic Gene Signature of Primary and Metastatic Melanoma Cell Lines: Focusing on HIF1-Beta and NDRG-1[J]. *Balkan Medical Journal*, 2018,37(1):15-23.
- [6] MENEZES S V, SAHNI S, KOVACEVIC Z, et al. Interplay of the iron-regulated metastasis suppressor NDRG1 with epidermal growth factor receptor (EGFR) and oncogenic signaling[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2017,292(31):12772-12782.
- [7] 张东成,常淑,毕明宏.NDRG1在非小细胞肺癌中的表达及其与PTEN表达的相关性[J]. *临床肺科杂志*,2010,15(10):1437-1439.
- [8] ZHANG Z, ZHANG S, CHEN H, et al. The up - regulation of NDRG1 by HIF counteracts the cancer - promoting effect of HIF in VHL - deficient clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cell Proliferation*, 2020.
- [9] MCCAIG C, POTTER L, ABRAMCZYK O, et al. Phosphorylation of NDRG1 is temporally and spatially controlled during the cell cycle[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011,411(2): 227-234.
- [10] BAE DH, JANSSON PJ, HUANG ML, et al. The role of NDRG1 in the pathology and potential treatment of human cancers[J]. *Journal of Clinical Pathology*, 2013,66(11): 911-917.
- [11] GELETA B, TOUT FS, LIM SC, et al. Targeting Wnt/tenascin C-mediated cross talk between pancreatic cancer cells and stellate cells via activation of the metastasis suppressor NDRG1[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2022.
- [12] QUAN Y, ZHANG X, BUTLER W, et al. The role of N-cadherin/c-Jun/NDRG1 axis in the progression of prostate cancer[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2021,17(13): 3288-3304.
- [13] 何宜静,欧琼,李婷,等.过表达NDRG1通过调控VEGF/sFlt-1轴增强缺氧条件下滋养细胞的促血管形成能力[J]. *安徽医科大学学报*,2020,55(5):745-750.
- [14] TU LC, YAN X, HOOD L, et al. Proteomics Analysis of the Interactome of N-myc Downstream Regulated Gene 1 and Its Interactions with the Androgen Response Program in Prostate Cancer Cells[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2007,6(4):575-588.
- [15] LIM SC, GELETA B, MALEKI S, et al. The metastasis suppressor NDRG1 directly regulates androgen receptor signaling in prostate cancer[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2021.
- [16] 吴石佳,刘汉钧,刘文清,等.NDRG-1与雌、孕激素受体在乳腺癌的表达及其相关性[J]. *广东医学*,2010,31(5):621-622.
- [17] NAGAI MA, GERHARD R, FREGNANI JH, et al. Prognostic value of NDRG1 and SPARC protein expression in breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2011,126(1):1-14.
- [18] NAKAHARA Y, ITO H, NAMIKAWA H, et al. A Tumor Suppressor Gene, N-myc Downstream-Regulated Gene 1 (NDRG1), in Gliomas and Glioblastomas[J]. *Brain Sciences*, 2022.
- [19] CHEN C Y, CHEN J, HE L, et al. PTEN: Tumor Suppressor and Metabolic Regulator[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2018.
- [20] WATARI K, SHIBATA T, FUJITA H, et al. NDRG1 activates VEGF-A-induced angiogenesis through PLC γ 1/ERK signaling in mouse vascular endothelial cells[J]. *Communications Biology*, 2020.
- [21] CHEN J, LI S, YANG Z, et al. Correlation between NDRG1 and PTEN expression in endometrial carcinoma[J]. *Cancer Science*, 2008,99(4):706-710.
- [22] BANDYOPADHYAY S, PAI SK, HIROTA S, et al. PTEN Up-Regulates the Tumor Metastasis Suppressor Gene Drg-1 in Prostate and Breast Cancer[J]. *Cancer Research*, 2004,64(21):7655-7660.
- [23] ITO H, WATARI K, SHIBATA T, et al. Bidirectional Regulation between NDRG1 and GSK3 β Controls Tumor Growth and Is Targeted by Differentiation Inducing Factor-1 in Glioblastoma[J]. *Cancer Research*, 2020,80(2):234-248.
- [24] SEVINSKY CJ, KHAN F, KOKABEE L, et al. NDRG1 regulates neutral lipid metabolism in breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Research*, 2018.
- [25] LI A, ZHU X, WANG C, et al. Upregulation of NDRG1 predicts poor outcome and facilitates disease progression by influencing the EMT process in bladder cancer[J]. *Scientific Reports*, 2019.
- [26] DE LIMA JM, MORAND GB, MACEDO CCS, et al. NDRG1 deficiency is associated with regional metastasis in oral cancer by inducing epithelial–mesenchymal transition[J]. *Carcinogenesis*, 2020,41(6):769-777.
- [27] XU S, GAO R, ZHOU Y, et al. Clinical Diagnostic and Prognostic Potential of NDRG1 and NDRG2 in Hepatocellular Carcinoma Patients[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022.
- [28] YIN X, YU H, HE XK, et al. Prognostic and biological role of the N-Myc downstream-regulated gene family in hepatocellular carcinoma[J]. *World Journal of Clinical Cases*, 2022,10(7): 2072-2086.
- [29] 范紫凌,饶歆旭,辛欢,等.核受体NR6A1与NDRG1互作促进肝癌进展[J].*生命科学研究*,2022,26(6):471-478.
- [30] WEI M, ZHANG Y, YANG X, et al. Claudin - 2 promotes colorectal cancer growth and metastasis by suppressing NDRG1 transcription[J]. *Clinical and Translational Medicine*, 2021.