

sponse; a bridge between psychiatry and medicine[J]. Med Clin North Am, 1977, 61(4): 929-938.

[13] Miller KM, Perry PA. Relaxation technique and postoperative pain in patients undergoing cardiac surgery[J]. Heart Lung, 1990, 19(2): 136-146.

[14] Trompeo AC, Vidi Y, Locane MD, et al. Sleep disturbances in the critically ill patients; role of delirium and sedative agents[J]. Minerva Anestesiologica, 2011, 77(6): 604-612.

[15] Dhand R. Sleep disorders: diagnosis and treatment[J]. Respir Care, 2010, 55(10): 1389-1396.

[16] Richards KC. Effect of a back massage and relaxation intervention on sleep in critically ill patients[J]. Am J Crit Care, 1998, 7(4): 288-299.

[17] Richardson S. Effects of relaxation and imagery on the sleep of critically ill adults[J]. Dimens Crit Care Nurs, 2003, 22(4): 182-190.

[18] Tusek DL, Cwynar R, Cosgrove DM. Effect of guided imagery on length of stay, pain and anxiety in cardiac surgery patients[J]. J Cardiovasc Manag, 1999, 10(2): 22-28.

[19] Hwang SL, Chang Y, Ko WJ, et al. Stress-reducing effect of physician's tape-recorded support on cardiac surgical patients in the intensive care unit[J]. J Formos Med Assoc, 1998, 97(3): 191-196.

[20] Henneman EA. Effect of nursing contact on the stress response of patients being weaned from mechanical ventilation[J]. Heart Lung, 1989, 18(5): 483-489.

[21] Deja M, Denke C, Weber-Carstens S, et al. Social support during intensive care unit stay might improve mental impairment and consequently health-related quality of life in survivors of severe acute respiratory distress syndrome[J]. Crit Care, 2006, 10(5): R147.

[22] Chan MF, Chung YF, Chung SW, et al. Investigating the physiological responses of patients listening to music in the intensive care unit[J]. J Clin Nurs, 2009, 18(9): 1250-1257.

[23] Miller AC, Hickman LC, Lemasters GK. A distraction technique for control of burn pain[J]. J Burn Care Rehabil, 1992, 13(5): 576-580.

(收稿日期: 2014-05-08 修回日期: 2014-09-10)

• 综 述 • doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.31.047

泛素偶联 2C 基因在肿瘤研究中的进展*

宫 琳¹, 施 露¹综述, 李 腾², 袁伟升¹审校

(1. 解放军 401 医院肝胆外科, 山东青岛 266071;
2. 军事医学科学院仪器分析中心, 北京 100853)

关键词: 泛素偶联 2C; 肿瘤; 研究进展
中图分类号: R735.7 文献标识码: A 文章编号: 1671-8348(2014)31-4252-03

真核生物中, 泛素蛋白酶体系(UPS)可精确调节细胞周期的过程。泛素激活酶(E1)、泛素偶联酶(E2)和泛素连接酶(E3)协同作用来完成 UPS 促进靶蛋白泛素化的功能。单一泛素化过程可调节细胞自噬现象、蛋白复合体的重组、DNA 修复以及转录过程; 靶蛋白的降解则需要多聚泛素化过程^[1]。E1 通过其半胱氨酸的活性位点的黏附作用激活泛素, 继而借助硫酯键将泛素传至 E2 的活性中心。最终借助 E3 的特异性介导作用, E2 促使泛素转移到靶蛋白上, 同时 E3 结合靶蛋白完成降解过程。人类基因组中有 2 个基因编码 E1, 38 个左右的基因编码 E2, 及 600 个以上的基因编码 E3。E3 成簇状分布, 多数 E3 属于真正有意义的新基因(RING)组, 包括 Skp1-Cullin-Fox (SCF) 复合体和分裂后期促进复合体(也称周期小体, APC/C)^[2]。很多学者把研究重点放在 E3 上, 因为其异常调节作用与肿瘤明显关联, 但最新研究表明 E2 在调节细胞周期进程和特殊肿瘤的发生、发展过程中也起到关键性作用。

泛素偶联 2C(UBE2C)基因具有高度的保守序列, 其人类同源基因 *UbcH10* 在 1997 年被克隆出来, 在细胞周期进程中起到重要作用, 其活性位点(Cys¹¹⁴ Ser)的突变, 抑制有丝分裂过程中的 Cyclin 蛋白的降解过程。UBE2C 具有癌基因特性,

体外和体内研究^[3]均表明, UBE2C 的累积可刺激细胞增殖和锚定非依赖生长。在许多人类肿瘤中, UBE2C 在 mRNA 和(或)蛋白水平上的表达异常增加, 并且在多种类型肿瘤中发现 UBE2C 的高表达与较差的临床预后相关^[4]。另外, 转基因鼠中 UBE2C 的过表达可导致肿瘤表型的出现^[5]。

1 UBE2C 的结构

E2 可分为 4 类并共享含有起催化作用的半胱氨酸残基的保守核心区域。第 1 类 E2 只包括核心区域, 在 E3 的作用下才能结合泛素。第 2、3 类除核心区域外分别含有 C 和 N 端的延展区域, 用于识别靶蛋白并调节泛素与靶蛋白的结合。第 4 类同时包含 C 和 N 端的延展区域。UBE2C 是第 3 类 E2。人类的 UBE2C 基因定位于 20q13.12, 编码 179 个氨基酸, 相对分子质量为 19.65×10³。初始的 28 个氨基酸序列组成了 N 端的延展区域, 剩余部分组成核心区域。UBE2C 的蛋白结构包括 1 个 4 股的反向平行 β 板(B1~4)、1 个保守的三螺旋结构(3₁₀)和 4 个 α 单环(H1~4)。独特的结构特征决定了这个 20×10³ 左右的蛋白, 可与诸如泛素、E1、E3 和靶蛋白等发生

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81301745)。 作者简介: 宫琳(1980—), 主治医师, 博士, 主要从事肝细胞癌的临床和基础研究工作。

相互作用。

1.1 E2 酶的核心区域 起催化作用的半胱氨酸 Cys¹¹⁴ 位于上述 B4 与 3₁₀ 之间的区域,而 3₁₀ 区域的几何构象,使带有正电荷的赖氨酸 Lys¹¹⁹ 容易接近活性位点 Cys¹¹⁴,促使泛素结合物的形成。4 股 β 板为活性位点 Cys¹¹⁴ 提供接触面,Gln³⁶ (H1)、Leu³⁹ (H1)、Leu⁵⁹ (B2) 和 Phe⁶⁰ (B2) 等与 E1 的泛素折叠域相互作用来调节 E2 的硫代酯转移过程^[6]。*UBE2C* 通过 Loop 1 (89~95)、Loop 2 (122~127) 和 N 端的延展区域 H1 区与 E3 相互作用。H1 区域的 Lys³³、Met⁴³、Met⁴⁴ 和 Asp⁴⁷,B1 区域的 Phe⁵³,Loops 1、2 区域的 Tyr⁹¹ 和 Ala¹²⁴ 与 APC/C 的结合决定了 *UBE2C* 是否通过结合位点形成 APC2 或 APC11 复合物^[7]。*UBE2C* 的降解过程需要 Cys¹¹⁴ 和 129~132 位点的破坏作用框序列(D-box);该蛋白含有 1 个 RWD 区域,包含 H1 区域起到关键性作用的 Glu³⁸ 和 Tyr⁸⁹ Pro⁹⁰ XXXPro⁹⁴ 序列,在 E2 和 E3 的相互作用以及 E2 形成二聚体的过程中起到重要作用。

1.2 E2 N 端的延展区域 *UBE2C* 的 N 端的延展区域不是形成泛素结合物的必须组分,但是它通过增加 APC/C 对其假底物抑制剂蛋白 Emi1 和 BubR1 的结合能力,限制靶蛋白 Lys 位点接近 E2 活性位点的方向,对 APC/C 的激活起到了抑制作用。此外,QNP 序列(Gln⁴、Asn⁵、Pro⁸)与 APC/C 之间的相互作用对 APC/C 的活性起抑制作用。QNP 序列缺失后,*UBE2C* 的核心区域会促进 APC/C 的活性。N 端的延展区域的起始序列促进 *UBE2C* 的自动泛素化过程^[8],其中第 1~27 残基的缺失可导致泛素链结构的破坏,第 10~28 残基通过结合 26S 的蛋白酶体发挥降解作用。

2 生物学功能

UBE2C 是调控 APC/C 的重要配体,通过起始部位的 Lys 位点结合泛素,发挥对 APC/C 靶蛋白的降解作用^[2]。人类的 APC/C 包含 14 个亚基,反应核心在 APC2 和 APC11 上。目前已报道的超过 55 个靶蛋白,其中 37 个参与到细胞周期的 S 和 M 期(如 Cyclin A、Cyclin B1、p21 和 securin),11 个与细胞周期普遍相关(如 E2-C、E2F1、JNK 和 Skp2),2 个是 APC/C 的共激活子(如 CDC20 和 Cdh1)。

2.1 泛素偶联 D-box 和 KEN-box 是 APC/C 最常见的降解序列,D-box 可被 APC/C 共同激活子 CDC20 和 Cdh1 识别,而 KEN-box 只能被 Cdh1 识别^[2]。故对于各种靶蛋白而言,D-box 和 KEN-box 的受体是 CDC20 和 Cdh1,当受体配体结合后,APC/C^{CDC20} 和 APC/C^{Cdh1} 将为 *UBE2C* 提供支架作用,便于 *UBE2C* 把 Lys¹¹-泛素结合物转移到靶蛋白上。TEK-box 位于 D-box 和 KEN-box 下游 20 个残基的位置,调节 Lys¹¹-泛素链的组装过程。TEK-box 包绕 Lys11 形成带电荷的小体,并将 Lys¹¹ 暴露给 *UBE2C* 的激活位点。通过调节靶蛋白与 APC/C 的结合,*UBE2C* 的 N 端带有正电荷的起始序列使 APC/C 精确地调节周期蛋白的降解过程^[8]。

2.2 调节细胞周期进程中关键蛋白的降解 *UBE2C* 在有丝分裂周期蛋白和其他相关的底物降解破坏的过程中起重要作用^[9]。*UBE2C* 通过 APC/C^{CDC20} 降解 securin 和 Cyclin B1,促进细胞有丝分裂期的中期向后期转化。两条姐妹染色体由 cohesin 蛋白环连接在一起,而分离酶对它起到降解作用。securin 蛋白与分离酶形成复合体,导致分离酶的灭活。*UBE2C* 通过降解 securin 蛋白来激活分离酶,导致姐妹染色体的分离,直接促使细胞进入分裂后期。Cyclin B1 和 Cdk1 形成复合物,促进有丝分裂进程的开始。*UBE2C* 可加速 Cyclin B1 的降解

而导致 Cdk1 的去磷酸化^[10]。Cdk1 去磷酸化后引起 Cdk1 的灭活,抑制细胞从有丝分裂期进入 G₁ 和 S 期。

2.3 调控有丝分裂纺锤体检查点 细胞周期从中期到后期的进程由纺锤体装配检查点(SAC)牢牢控制。SAC 蛋白包括 MAD2、BUB3 和 BubR1 等,其功能是确保着丝粒的正确附着以及修复染色体的错误分离^[11]。SAC 蛋白通过抑制 CDC20 的功能来抑制 APC/C 的活性,当着丝粒正确的附着时,SAC 不发挥其抑制作用。*UBE2C* 促使 CDC20 与 SAC 蛋白分离,导致 SAC 蛋白的灭活,虽然这个过程依赖于 APC/C,但 *UBE2C* 在控制 SAC 分子机制的调控方面起到不可或缺的作用。与之相反,去泛素化酶 USP44 介导 CDC20 的去泛素化,来防止细胞分裂过早进入后期。

3 *UBE2C* 的表达、活化和降解

3.1 *UBE2C* 的表达 目前已确定的 *UBE2C* 的转录因子,可结合 c-Rel、Pax-2、Pax-2a、CP1A、CP1C、NF-1、SRF、TGIF、Meis-1 和 c-Myc 等基因位点。在前列腺癌细胞中,*UBE2C* 可作为雄激素的受体靶基因;而在雄激素受体阴性的细胞中,*UBE2C* 保持对雄激素受体共同激活子的高度敏感性^[12]。*UBE2C* 也可以被乳腺癌细胞中的雌激素受体诱导而高表达^[13]。在尤因肉瘤和原发性神经外胚层瘤中,*UBE2C* 在 mRNA 和蛋白水平表达同时上调^[14-15]。*UBE2C* 定位于细胞核和细胞质中,其表达水平受细胞周期调控,G₁ 期表达水平低,S 期和 G₂ 期逐渐累积,在有丝分裂期达到高峰,分裂间期迅速下降。

3.2 *UBE2C* 的活化 E1 在 ATP 的辅助下激活泛素,借助硫酯链将泛素传送到 E2。此后在没有结合 E3 前,游离的 E2 偶联泛素;E3 激活 E2,并将泛素转移至靶蛋白。E3 诱导 E2 空间构象改变,暴露 *UBE2C* 的 ASN¹⁰⁶ 接近激活位点。这种变化稳定了带有氧离子过渡体,导致 *UBE2C* 的全面激活^[1]。

3.3 *UBE2C* 的降解 *UBE2C* 的降解实际上是自动泛素化进程的结果,值得关注的是这个过程与 APC/C^{Cdh1} 有关而与 APC/C^{CDC20} 无关^[16]。在有丝分裂过程中,APC/C 与靶蛋白饱和性结合;在完成靶蛋白的降解过程后,APC/C 灭活 *UBE2C*^[2]。去泛素化酶缓慢地从 *UBE2C* 上移除泛素,故 *UBE2C* 的降解变成一个缓慢的进程。去泛素化酶仅对结合泛素的 *UBE2C* 从 APC/C^{Cdh1} 上解离过程有活性,但具体机制尚不清楚。

4 展望

UBE2C 的 mRNA 在正常组织中几乎检测不到。与之相反,在白血病、淋巴瘤、黑色素瘤、肾上腺癌、膀胱癌、脑癌、乳腺癌、宫颈癌、结直肠癌、食道癌、肝癌、肺癌、鼻咽癌、卵巢癌、晚期前列腺癌、胰腺癌、胃癌及甲状腺癌组织中,*UBE2C* 的 mRNA 和蛋白水平的表达可见明显升高^[17-19]。有研究报道,在肾上腺癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌和卵巢癌中,*UBE2C* 的表达水平与肿瘤的分级、较差的预后呈正相关^[4,20]。

UBE2C 在致癌方面的上调机制尚不清楚,有研究检测到 *UBE2C* 的基因扩增。另一个可能机制为 *UBE2C* 上游蛋白的过表达或者高度活化,例如晚期前列腺癌的雄激素受体和 MED1、乳腺癌中雌激素受体以及其他肿瘤中的 c-Myc 蛋白^[21]。研究者在 7 949 个癌组织样本中,发现 *UBE2C* 基因有 20 种体细胞突变形式。*UBE2C* 的三维结构目前已研究清晰,D-BOX 序列起稳定结构、抵抗降解的作用,而其中的 Arg¹²⁹ Ser 位点的突变在鳞状细胞肺癌组织中已被证实并且具有很重要的生物学意义。相反,体内、体外实验均证实,应用三苯氧胺、

全反式维甲酸及雷帕霉素等抗癌药物或抑癌基因的高表达可下调 *UBE2C* 的 mRNA 水平,并起到抑制癌细胞增殖的作用^[22-23]。

UBE2C 转基因鼠易患各种自发性肿瘤,研究发现在这种鼠体内 Cyclin B1 过早降解,出现染色体分离延迟或者非整数倍体^[24]。体内研究发现,抑制 *UBE2C* 可降低晚期前列腺癌细胞的侵袭能力^[25]。综上所述,*UBE2C* 在癌症的发生、发展中扮演重要角色,进一步的深入研究非常有必要性。

参考文献:

- [1] Ye Y, Rape M. Building ubiquitin chains; E2 enzymes at work[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(11): 755-764.
- [2] Meyer HJ, Rape M. Processive ubiquitin chain formation by the anaphase-promoting complex[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22(6): 544-550.
- [3] Hao Z, Zhang H, Cowell J. Ubiquitin-conjugating enzyme UBE2C: molecular biology, role in tumorigenesis, and potential as a biomarker[J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(3): 723-730.
- [4] van Ree JH, Jeganathan KB, Malureanu L, et al. Overexpression of the E2 ubiquitin-conjugating enzyme UbcH10 causes chromosome missegregation and tumor formation [J]. *J Cell Biol*, 2010, 188(1): 83-100.
- [5] Pallante P, Malapelle U, Berlingieri MT, et al. UbcH10 overexpression in human lung carcinomas and its correlation with EGFR and p53 mutational status [J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(5): 1117-1126.
- [6] Olsen SK, Lima CD. Structure of a ubiquitin E1-E2 complex; insights to E1-E2 thioester transfer [J]. *Molecular Cell*, 2013, 49(5): 884-896.
- [7] Nagy O, Pál M, Udvardy A, et al. LemmingA encodes the Apc11 subunit of the APC/C in *Drosophila melanogaster* that forms a ternary complex with the E2-C type ubiquitin conjugating enzyme, Vihar and Morula/Apc2 [J]. *Cell Div*, 2012, 7(1): 9.
- [8] Williamson A, Banerjee S, Zhu X, et al. Regulation of ubiquitin chain initiation to control the timing of substrate degradation [J]. *Mol Cell*, 2011, 42(6): 744-757.
- [9] Zhao M, Zhang NY, Zurawel A, et al. Degradation of some polyubiquitinated proteins requires an intrinsic proteasomal binding element in the substrates [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(7): 4771-4780.
- [10] Dimova NV, Hathaway NA, Lee BH, et al. APC/C-mediated multiple monoubiquitylation provides an alternative degradation signal for cyclin B1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(2): 168-176.
- [11] Nath S, Banerjee T, Sen D, et al. Spindle assembly checkpoint protein Cdc20 transcriptionally activates expression of ubiquitin carrier protein UbcH10 [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(18): 15666-15677.
- [12] Shuliang S, Lei C, Guangwu J, et al. Involvement of ubiquitin-conjugating enzyme E2C in proliferation and invasion of prostate carcinoma cells [J]. *Oncol Res*, 2014, 21(3): 121-127.
- [13] Chen Z, Zhang C, Wu D, et al. Phospho-MED1-enhanced UBE2C locus looping drives castration-resistant prostate cancer growth [J]. *EMBO J*, 2011, 30(12): 2405-2419.
- [14] Jiang L, Wang T, Bao Y, et al. A study of UbcH10 expression and its association with recurrence of meningiomas [J]. *J Surg Oncol*, 2012, 106(3): 327-331.
- [15] Vasiljevic A, Champier J, Figarella-Branger D, et al. Molecular characterization of central neurocytomas: potential markers for tumor typing and progression [J]. *Neuropathology*, 2013, 33(2): 149-161.
- [16] Patel D, McCance DJ. Compromised spindle assembly checkpoint due to altered expression of UbcH10 and Cdc20 in human papillomavirus type 16 E6- and E7-expressing keratinocytes [J]. *J Virol*, 2010, 84(21): 10956-10964.
- [17] Wang S, Rijk JC, Pen MJ, et al. A low-density DNA microchip for the detection of (anti-)estrogenic compounds and their relative potencies [J]. *Anal Biochem*, 2013, 435(1): 83-92.
- [18] Morikawa T, Kawai T, Abe H, et al. UBE2C is a marker of unfavorable prognosis in bladder cancer after radical cystectomy [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(7): 1367-1374.
- [19] Shen Z, Jiang X, Zeng C, et al. High expression of ubiquitin-conjugating enzyme 2C (UBE2C) correlates with nasopharyngeal carcinoma progression [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 192.
- [20] Bavi P, Uddin S, Ahmed M, et al. Bortezomib stabilizes mitotic cyclins and prevents cell cycle progression via inhibition of UBE2C in colorectal carcinoma [J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(5): 2109-2120.
- [21] Rawat A, Gopal G, Selvaluxmy G, et al. Inhibition of ubiquitin conjugating enzyme UBE2C reduces proliferation and sensitizes breast cancer cells to radiation, doxorubicin, tamoxifen and letrozole [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2013, 36(6): 459-467.
- [22] Lu J, Wen M, Huang Y, et al. C2ORF40 suppresses breast cancer cell proliferation and invasion through modulating expression of M phase cell cycle genes [J]. *Epigenetics*, 2013, 8(6): 571-583.
- [23] Psyrri A, Kalogeris KT, Kronenwett R, et al. Prognostic significance of UBE2C mRNA expression in high-risk early breast cancer, a hellenic cooperative oncology group (HeCOG) study [J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(6): 1422-1427.
- [24] Xie C, Powell C, Yao M, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme E2C: a potential cancer biomarker [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 47: 113-117.
- [25] Wang H, Zhang C, Rorick A, et al. CCI-779 inhibits cell-cycle G2-M progression and invasion of castration-resistant prostate cancer via attenuation of UBE2C transcription and mRNA stability [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(14): 4866-4876.