

基因KLHL5在疾病中的研究进展

王依晨*, 张 喆, 马 鹏#

延安大学附属医院消化内科, 陕西 延安
Email: *854225561@qq.com, #403727583@qq.com

收稿日期: 2020年9月30日; 录用日期: 2020年10月15日; 发布日期: 2020年10月22日

摘 要

近年来, 人们在构建人胎脑cDNA文库和大规模测序中发现了*kelch*基因家族的新成员KLHL5, 并发现该基因可能与多种疾病的发生及部分肿瘤的转移相关, 这一发现可能为疾病的治疗提供新的基因靶点。本文就KLHL5的结构、功能特点及与相关疾病的研究进展进行综述。

关键词

基因KLHL5, 结构, 功能, 相关疾病, 研究进展

Research Progress of Gene *KLHL5* in Diseases

Yichen Wang*, Zhe Zhang, Peng Ma#

Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an Shaanxi
Email: *854225561@qq.com, #403727583@qq.com

Received: Sep. 30th, 2020; accepted: Oct. 15th, 2020; published: Oct. 22nd, 2020

Abstract

In recent years, people have discovered the new member of the *kelch* gene family *KLHL5* in the construction of human fetal brain cDNA library and large-scale sequencing, and found that the gene may be associated with the occurrence of many diseases and the metastasis of some tumors. This discovery may provide a new gene target for the treatment of disease. This article reviews the structure, functional characteristics and research progress of *KLHL5* and related diseases.

*第一作者。

#通讯作者。

Keywords

Gene *KLHL5*, Structure, Function, Related Diseases, Research Progress

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

研究发现, *kelch* 家族的很多基因在生物组织发育、肿瘤的发生及转移过程中发挥重要作用[1] [2] [3]。近年来, 人们通过构建人胎脑 cDNA 文库和大规模测序发现 *kelch* 基因家族的新成员 *KLHL5*, 并发现该基因可能与多种疾病的发生及部分肿瘤的转移相关, 或许其可作为新的基因治疗靶点。本文就基因 *KLHL5* 的相关研究进展作一综述。

2. 基因 *KLHL5* 的结构及功能特点

通过构建人胎脑 cDNA 文库和大规模测序得到许多条高度重叠的表达序列标签, 拼接后得到一条新的全长的人类基因。该 cDNA 长 3505 bp, 包含一个 2268 bp 的开放阅读框(open reading frame, ORF), 从 76~2343 nt, 编码 755 个氨基酸, 3'端没有经典的加尾信号, 但是有 *Poly A* 尾巴。该基因在核酸和蛋白水平与很多 *kelch* 家族的成员有很高的同源性, 被命名为 *KLHL5*。*KLHL5* 的分子量是 84.5 KD, 等电点(pI)是 6.54。它在蛋白水平上和果蝇的 76.5 KD 的 *kelch* 蛋白有非常高的同源性(相同性 43%, 相似性 59%), 其它有较高同源性的蛋白包括小鼠的 *kelch-1* 样蛋白、人的 *KLHL2* (*Mayven*)、*KLHL3* [4]。通过模式搜索方法分析确定了 *KLHL5* 有两个保守结构域, 即 BTB 结构域和 *kelch-repeat* 结构域。BTB 结构域位于 *KLHL5* 的氨基末端; 由六个串联排列的 *kelch* 结构域组成的 *kelch-repeat* 结构域位于 *KLHL5* 的羧基末端。*KLHL5* 的两个保守结构域均与果蝇 *kelch* 蛋白的 BTB 结构域及 *kelch-repeat* 结构域有很高的同源性。*KLHL5* 的 *kelch-repeat* 结构域与果蝇 *kelch* 蛋白的比对揭示了残基的保守模式, 包括甘氨酸-甘氨酸双峰, 其在几乎所有的 *kelch* 重复中是不变特征[5]。*KLHL5* 已经在人体成功克隆的, 其基因位于人染色体的 4p13-4p15.1。通过 Northern 印迹技术分析显示, 在卵巢、肾上腺、甲状腺和胸腺中有大量 *KLHL5* 转录产物, 而前列腺、睾丸、脊髓、淋巴结和气管中 *KLHL5* 的含量较低[4]。

Xu 等[6]研究分离到 *KLHL5* 的两个不同剪接变异体, 分别命名为 *KLHL5a* 和 *KLHL5b*。*KLHL5a* 的 cDNA 长 3488 bp, 含有 2268 bp 的 ORF, 编码 755 个氨基酸; 而 *KLHL5b* 的 cDNA 长 3305 bp, 包含 2085 bp 的 ORF, 编码 694 个氨基酸, 分子量为 77.4 KD, pI 为 6.1。研究发现 *KLHL5a* 和 *KLHL5b* 都有 6 个保守的 *kelch-repeat* 基序和一个保守的 BTB 结构域。*KLHL5a* 由 11 个外显子组成, 而 *KLHL5b* 缺少第 2 个外显子, 因此, 10 个外显子和 9 个内含子组成 *KLHL5b*, 比 *KLHL5* 少 183 bp, 且 *KLHL5b* 蛋白比 *KLHL5a* 短 61 个氨基酸, 且氨基酸的缺失发生在 *KLHL5b* 的 BTB 结构域内, 这可能截断 *KLHL5b* 的 BTB 结构域的“核心区域”的一部分。因此有学者推测由这两个 BTB 结构域介导的功能可能不同, 因为截断 *KLHL5b* 的 BTB 结构域可能阻止结构域的正确折叠。

研究结果显示 *KLHL5a* 和 *KLHL5b* 在人体多种组织中普遍表达, 它们在成人心脏、脑、胎盘、肝脏、肾脏和胰腺中强烈表达, 而在肺、脾、卵巢和小肠中表达较弱。*KLHL5a* 和 *KLHL5b* 在肾脏和胰腺中的表达模式不同, 因此我们推测 *KLHL5a* 和 *KLHL5b* 的不同组织表达模式可能意味着不同的功能。

3. *KLHL5* 与疾病的相关性研究

KLHL5 是一种含有 BTB-BACK-Kelch (BBK) 结构域的蛋白质, 尽管研究很少, 它属于与基于 *cullin 3* (*Cul3*) 的 E3 泛素连接酶相关的蛋白质家族。研究表明 BBK 蛋白在底物识别和 *Cul3* 靶向中起关键作用, 其中 BTB 结构域与 *Cul3* 相互作用, 且 *kelch* 结构域参与与底物的结合。研究发现鞘氨醇激酶 1 (sphingosine kinase 1, SK1) 的蛋白酶体降解是由其在 *Lys183* 的泛素化引起的, 而这种泛素化似乎是由 SK1 结构的构象变化促成的, 进一步发现 *KLHL5* 是连接 SK1 和 *Cul3* 泛素连接酶复合物的关键蛋白适配器[7]。靶向敲除 *KLHL5* 或 *Cul3* 可抑制由所有试剂诱导的 SK1 蛋白酶体的降解。这些发现突出了癌症治疗的新潜在目标。

研究表明 *KLHL5* 的表达降低了对抗癌药物, 特别是 *Akt/PI3K/mTOR* 抑制剂的敏感性。*KLHL5* 敲除与细胞周期抑制剂和 *Akt/PI3K/mTOR* 抑制剂协同作用, 可降低肿瘤增生和生存能力, 增加了对多种抗癌药物的敏感性。另外发现 *KLHL5* 是头颈部鳞癌中仅有的两种表达改变的 *KLHL* 之一, 在肾乳头中的表达显著降低。这意味着 *KLHL5* 抑制或调节可能是一种潜在的肿瘤细胞对特定药物敏感的方法[8]。

Kelch 蛋白家族是一种新型的微丝结合蛋白, 在维持血小板活性过程中肌动蛋白微丝的结构发挥着重要作用[9]。*MiR-495* 可通过作用于 *KLHL5*, 与 *KLHL5* mRNA 的 3' 非翻译区相结合而抑制 *KLHL5* 基因的表达[10], 影响血小板的肌动蛋白微丝, 进而影响血小板的活性。

在原发性结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 与腹膜种植转移间不同的基因表达预测 CRC 转移潜能的研究中, 基因芯片检测结果示腹膜转移细胞系中 *KLHL5* 为其中一个上调基因, 且 *KLHL5* 可能与接触抑制有关[11]。

在鉴定乳腺癌热疗诱导基因, 区分乳腺正常上皮细胞和癌细胞的热休克反应研究中发现: 基因 *KLHL5* 在轻度热休克后三个乳腺癌系中表达有明显差异。这是区分乳腺癌细胞与乳腺上皮细胞热应答的核心基因之一, 其可能存在有助于确定轻度热疗如何优先选择抗肿瘤细胞的机制[12]。

在检索 *KLHL5* 所定位染色体的基因与疾病的染色体信息时发现[5], 该染色体区段有一些重要的致病基因, 如 *UCHL1* (*ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1*)、*HIP2* (*huntingtin-interacting protein2*)、*TLRI* (*toll-like receptor 1*) 等。*UCHL1* 是帕金森病 5 型的致病基因, 而帕金森病是一种普遍存在的神经退行性疾病, 严重危害人类的健康; *HIP2* 编码的蛋白能够与 *Huntingtin* 相互作用, 而 *Huntingtin* 是另一种神经退行性疾病 *Huntingtin-disease* 的致病基因。考虑到功能有联系的基因通常在染色体上呈簇分布, *KLHL5* 可能和 *UCHL1*、*HIP2*、*TLRI* 等基因以及帕金森病、*Huntingtin-disease* 疾病等相关。另外, *MAFD6*、*RCDP2*、*MRTAB4* 疾病的致病基因也定位到该区段。*MAFD6* 是 6 型疯狂性精神压抑病; *RCDP2* 是一种隐性遗传病, 表现为骨骼发育不全, 呈树根形、多孔状; *MRTAB4* 是一种智力缺陷病。考虑到 *kelch* 蛋白的重要作用, *KLHL5* 可能是 *MAFD6*、*RCDP2*、*MRTAB4* 等疾病的重要候选基因, 为定位克隆这些疾病的致病基因提供重要线索。

研究显示, 若几条基因序列能聚在一个类内, 则说明这几条序列在样本内的表达情况相似, 同时也说明这些基因的功能有一定的相似或者相关联的地方。在对 *KLHL5* 在 12 张肝癌表达谱芯片的聚类分析显示, *KLHL5* 与其它致癌基因的表达相似, 它们可能参与相同的生理活动或受同样的调节, 即 *KLHL5* 可能与肝癌的发生相关[5]。

4. 小结

目前国内外对 *KLHL5* 基因的研究较少, 仅了解其结构特征、表达和分布区域, 而其功能和致病机制尚不完全清楚。根据文献报道, *KLHL5* 可能与帕金森氏病、急性脑梗死、亨廷顿病、头颈部鳞癌、乳腺癌、肝癌和原发性 CRC 转移相关, 但大多数限于临床数据整理和分析。导致疾病发生、影响肿瘤转移的

分子机制和信号传导途径仍需要大量研究来阐明。*KLHL5* 可能是许多疾病的重要候选基因, 并且可以为这些疾病致病基因的定位克隆提供重要线索。如果其具体机制可以明确, 我们将能通过基因编辑和其他手段使 *KLHL5* 成为治疗疾病的新靶标。同时, *KLHL5* 基因是否仍然与其他肿瘤的出现和转移有关的问题也是我们需要关注和思考的。随着基因组学和蛋白质组学的飞速发展, 以及芯片技术、质谱技术、测序技术等技术的发展, 相信人们对 *KLHL5* 基因与疾病尤其是肿瘤之间相关性的研究将继续取得进展。

参考文献

- [1] Adams, J., Kelso, R. and Cooley, L. (2000) The *Kelch Repeat* Superfamily of Proteins: Propellers of Cell Function. *Trends in Cell Biology*, **10**, 17-24. [https://doi.org/10.1016/S0962-8924\(99\)01673-6](https://doi.org/10.1016/S0962-8924(99)01673-6)
- [2] 刘惠芳, 邓靖宇, 梁寒. *KLHL6* 在肿瘤研究中的进展[J]. 天津医科大学学报, 2017(6): 91-95.
- [3] 肖枫, 宋宏涛, 魏群. 哺乳动物中 *Kelch* 超家族蛋白的结构与功能[J]. 生物化学与生物物理进展, 2011, 38(3): 210-217.
- [4] Wang, S., Zhou, Z., Ying, K., et al. (2001) Cloning and Characterization of *KLHL5*, a Novel Human Gene Encoding a *Kelch-Related* Protein with a BTB Domain. *Biochemical Genetics*, **39**, 227-238. <https://doi.org/10.1023/A:1010203114697>
- [5] 王曙. *Kelch* 家族基因 *KLHL5*、*KLHL6* 的克隆和功能研究[D]: [博士学位论文]. 上海: 复旦大学, 2002.
- [6] Xu, J., Gu, S., Wang, S., et al. (2003) Characterization of a Novel Splicing Variant of *KLHL5*, a Member of The *kelch* Protein Family. *Molecular Biology Reports*, **30**, 239-242 <https://doi.org/10.1023/A:1026372901766>
- [7] Powell Jason, A., Pitman Melissa, R., Zebol Julia, R., et al. (2019) *Kelch-Like Protein* 5-Mediated Ubiquitination of *Lysine* 183 Promotes Proteasomal Degradation of Sphingosine Kinase 1. *The Biochemical Journal*, **476**, 3211-3226. <https://doi.org/10.1042/BCJ20190245>
- [8] Schleifer Robert, J., Li, S.C., Nechtman, W., et al. (2018) *KLHL5* Knockdown Increases Cellular Sensitivity to Anti-cancer Drugs. *Oncotarget*, **9**, 37429-37438. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26462>
- [9] Douglas, N. (1997) Robinson and Lynn Cooley. *Drosophila Kelch* Is an Oligomeric Ring Canal Actin Organizer. *The Journal of Cell Biology*, **138**, 799-810. <https://doi.org/10.1083/jcb.138.4.799>
- [10] Nagalla, S., Shaw, C., Kong, X., et al. (2011) Platelet microRNA-mRNA Coexpression Profiles Correlate with Platelet Reactivity. *Blood*, **117**, 5189-5197. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-09-299719>
- [11] Kim, S.C., Hong, C.W., Jang, S.G., et al. (2018) Establishment and Characterization of Paired Primary and Peritoneal Seeding Human Colorectal Cancer Cell Lines: Identification of Genes That Mediate Metastatic Potential. *Translational Oncology*, **11**, 1232-1243. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2018.07.014>
- [12] Amaya, C., Kurisetty, V., Stiles, J., et al. (2014) A Genomics Approach to Identify Susceptibilities of Breast Cancer Cells to "Fever-Range" Hyperthermia. *BMC Cancer*, **14**, 14-81. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-81>