

文章编号: 1001-6325(2023)05-0852-05

短篇综述

NT5C2 在疾病及治疗中的研究进展

舒玲, 霍本念, 宋林*

重庆医科大学附属儿童医院 药学部, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心 儿童发育疾病研究教育部重点实验室
儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014

摘要: NT5C2 所编码的蛋白为胞质 5'-核苷酸酶 II (cN-II), 该酶具有催化核苷单磷酸酯去磷酸化作用, 主要参与细胞内嘌呤核苷酸库的调节。高表达 cN-II mRNA 与急性白血病 (AL) 患者预后较差有关, 获得性 NT5C2 突变会阻碍 DNA 和巯鸟嘌呤核苷酸 (TGN) 结合物的形成, 导致 6-巯基嘌呤 (6-MP) 耐药。此外, NT5C2 与 2 型糖尿病、精神分裂症等多种疾病的发生风险都具有关联性。

关键词: NT5C2; 胞质 5'-核苷酸酶 II (cN-II); 核苷类似物; 急性白血病 (AL); 2 型糖尿病

中图分类号: Q915 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.05.0852

Research progress of NT5C2 in disease and treatment

SHU Ling, HUO Bennian, SONG Lin*

Department of Pharmacy, Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing 400014, China

Abstract: Cytosolic 5'-nucleotidase II (cN-II), the protein encoded by NT5C2, can catalyze the dephosphorylation of nucleoside monophosphate and is mainly involved in the regulation of purine nucleotide pool in cells. High expression of cN-II mRNA is associated with poor prognosis of patients with acute leukemia (AL). Acquired NT5C2 mutation will hinder the formation of DNA and thioguanine nucleotide (TGN) conjugate, resulting in 6-mercaptopurine (6-MP) resistance. In addition, NT5C2 is a risk factor associated with type II diabetes, schizophrenia and other diseases.

Key words: NT5C2; cytosolic 5'-nucleotidase II (cN-II); nucleoside analogue; acute leukemia (AL); type 2 diabetes

NT5C2 所编码的胞质 5'-核苷酸酶 II (cytosolic 5'-nucleotidase II, cN-II), 可水解肌苷-5'-单磷酸 (inosine 5'-monophosphate, 5'-IMP) 和其他嘌呤核苷酸, 在细胞嘌呤代谢中发挥重要作用^[1]。近年来, 多项研究显示 NT5C2 在人类多种疾病的发生、发

展、治疗中均发挥作用^[2-4]。核苷类似物作为癌、病毒性疾病等多种疾病的治疗药物, 其在体内可被 cN-II 去磷酸化而导致耐药性的产生以及疾病的复发^[5]。此外, NT5C2 的表达与 2 型糖尿病、精神分裂症等疾病的发生和发展均有相关性^[6-7]。现有的

收稿日期: 2022-03-14 修回日期: 2022-06-29

基金项目: 国家自然科学基金 (81900162)

* 通信作者 (corresponding author): songlin@hospital.cqmu.edu.cn

研究已确定 *NT5C2* 及其突变与机体相应的病理改变相关^[8]。本文旨在对现有的 *NT5C2* 在疾病及治疗中的研究进行综述,为基于 *NT5C2* 的相关研究和疾病的治疗提供参考。

1 *NT5C2* 概述

1.1 *NT5C2* 结构

NT5C2 位于染色体 10q24.32,其编码的蛋白为 cN-II,为哺乳动物的 7 个已知 5'-核苷酸酶之一^[9]。该酶为两个紧密连接的二聚体组成的同源四聚体,cN-II 有一个 α/β 结构域,包含一个被 8 个 α -螺旋包围的 8 股反平行 β -折叠,其核心区域包含了其底物核苷酸盐的结合位点;而 cN-II 的核心结构域包含 5 个附加的 α 螺旋和一些参与亚基相互作用或效应子结合的环结构。晶体学分析发现根据变构调节剂的不同,cN-II 呈现两种不同活性的构象^[1,10]。

1.2 *NT5C2* 功能

NT5C2 所编码的 cN-II 作为一种水解酶,广泛分布于机体各组织器官,cN-II 酶主要参与 6-羟基嘌呤为底物的核苷酸反应,优先水解 5'-IMP 和单磷酸腺苷 (adenosine monophosphate, AMP) 等,通过去磷酸化生成肌苷和腺苷,调节核苷酸库,维持细胞能量平衡^[1]。在生理浓度下的 ATP 中,形成活性较高的构象,反之,cN-II 活性降低,进而导致 AMP 和 IMP 的积累,可能导致腺苷酸活化蛋白激酶的激活和腺苷的排泄^[1]。其生物学作用为参与机体脱氧核糖核苷酸三磷酸和核糖核苷酸三磷酸的水平调节,维持其体内平衡。因此,cN-II 可以核苷类似物为底物,影响其体内代谢及药物浓度^[11]。

2 *NT5C2* 与急性白血病

急性白血病 (acute leukemia, AL) 为一种以骨髓中白血病细胞无限增殖、分化阻滞和凋亡受抑为特征的恶性克隆性疾病,主要包括急性淋巴细胞性白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 和急性髓细胞性白血病 (acute myeloid leukemia, AML)。ALL 为小儿最常见的恶性肿瘤,仍有逐年上升趋势,目前其治疗产生约 80% 5 年无事件生存率,但复发后存活率降低^[12-13]。6-巯基嘌呤 (6-mercaptopurine, 6-MP)、阿糖胞苷等核苷类似物

为儿童 ALL 治疗的重要药物,其作为前体在细胞内经激酶磷酸化生成活性代谢物,以抑制 DNA 生成,并杀灭肿瘤细胞。近年来,ALL 耐药和复发的防治得到了国内外学者的广泛关注,多项研究表明 *NT5C2* 表达与 ALL 及 AML 核苷类似物耐药性和疾病复发有关^[8,14]。

2.1 *NT5C2* 高表达与急性白血病的相关性

NT5C2 mRNA 的高表达与 ALL 患者预后较差有关,近期有两项研究均显示,急性白血病复发患儿骨髓样本中 *NT5C2* mRNA 水平显著高于完全缓解组患儿^[15-16]。表明 *NT5C2* mRNA 的高表达与急性白血病患者预后较差和疾病复发相关,因此在早期治疗时进行 *NT5C2* mRNA 表达水平的监测有利于对疾病进展的早期监控和处理。

2.2 *NT5C2* 突变与 6-MP 耐药

cN-II 高表达可导致 6-巯基嘌呤 [mercaptopurin (hydrate), 6-MP] 的去磷酸化和清除,进而减少其活性代谢产物的产生,抑制其介导的细胞毒性作用,从而导致耐药^[5]。复发的 ALL 中获得性 *NT5C2* 突变会阻碍 DNA 和巯鸟嘌呤核苷酸 (thioguanine nucleotide, TGN) 结合物的形成,是 6-MP 耐药的一个常见机制^[3]。有研究对 *NT5C2* 进行靶向测序,评估 *NT5C2* 变异对 ALL 患儿 6-MP 代谢物的个体间差异的影响,结果显示变异体 rs58700372 与 *NT5C2* 转录活性升高和 6-MP 活性降低 (即产生较低的代谢 TGN) 有关,表明 *NT5C2* 种系变异对巯代嘌呤药物处置的患者间变异有显著影响^[3]。

为了研究 6-MP 耐药的分子机制,有研究建立了一系列稳定过表达野生型或突变型 *NT5C2* 的 ALL 细胞系 (Nalm6 和 REH),在 Nalm6 和 REH 中,突变体 *NT5C2* 的异位表达导致了细胞对 6-MP 的明显耐药,而过度表达野生型 *NT5C2* 的细胞对 6-MP 仍高度敏感,表明突变体 *NT5C2* 不仅是野生型的超活性形式,而可能获得了与 6-MP 代谢相关的新催化功能,即 *NT5C2* 突变改变了 6-MP 体内细胞代谢,且对内源性核苷酸的平衡和巯嘌呤 (thiopurine) 诱导的代谢组学反应可能造成了影响^[5]。因此,多种机制可能被整合在一起,使携带 *NT5C2* 突变的白血病细胞具有 6-MP 耐药性。

2.3 *NT5C2* 突变与 ALL 复发

ALL 复发是由于亚克隆的出现,亚克隆通过基

因改变获得竞争优势,导致对治疗中使用的一种或多种药物产生耐药性。亚克隆 ALL *NT5C2* 突变的存在与复发后较差的预后相关^[14]。近来,有研究基于数字液滴聚合酶链反应,在 6 例儿童 ALL 患者复发前的外周血样本中成功检测到 *NT5C2* 的变异^[8]。然而,有研究对初始诊断时采集的 503 例儿童 ALL 样本队列中的包含 *NT5C2* 在内的 7 个复发相关基因进行深度靶向测序,结果却只在一例非复发病例中检测到亚克隆 *NT5C2* 突变,原因可能是在诊断时激活 *NT5C2* 突变数量低,突变通常只能在非常小的细胞亚群中检测到,远远低于该研究中的单分子的分单分子逆转探针 (single-molecule molecular inversion probe, smMIP) 分析的检测水平^[17]。

3 *NT5C2* 与 2 型糖尿病

2 型糖尿病为一种代谢性疾病,其特点是在胰岛素抵抗和相对胰岛素不足的情况下出现高血糖,目前其病因尚不清楚,国内外学者多认为其为多基因遗传性疾病。有研究显示 *NT5C2* 为调节 2 型糖尿病发生与发展的关键基因之一^[18]。高脂饮食小鼠中, *Nt5c2* 敲除小鼠与野生型比较,体质量/脂肪增加减少,葡萄糖耐量提高,血浆胰岛素、三酰甘油和尿酸水平降低; *Nt5c2* 敲除小鼠附睾脂肪细胞更小、更少,脂解率更高,表明小鼠 *Nt5c2* 缺失对体质量增加、肥胖、胰岛素抵抗和相关的升高血糖有保护作用; *Nt5c2* 的缺失可能通过增加磷脂酰肌醇 3-激酶信号,提高胰岛素在高脂血症小鼠中的葡萄糖摄取量^[6]。细胞试验显示大鼠胰岛素瘤上皮细胞 RIN-m5F 瞬时转染 *Nt5c2* 可导致 DNA 甲基转移酶 I (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 表达下调且胰岛素受体表达上调, *Nt5c2* 敲除可导致 DNMT1 过表达以及胰岛素受体表达抑制,表明 *NT5C2* 参与了胰岛素信号传导^[6]。目前仅有的研究表明 *NT5C2* 可能是治疗 2 型糖尿病的一个靶点,但是这需要未来更多的相关研究去验证。

4 *NT5C2* 与精神分裂症

现有研究显示精神分裂症 (schizophrenia, SCZ) 可能与胎儿和成人大脑中 *NT5C2* 表达降低有关^[19]。另一项通过整合 SCZ 的全基因组关联分析 (GWAS) 汇总统计数据,以及组织特异性表达数量

性状位点 (eQTL) 数据的研究,整合 6 种不同方法预测的这些致病基因,最终确定了包括 *NT5C2* 在内的 150 个与 SCZ 相关的潜在候选基因^[7]。 *NT5C2* 与 SCZ 有大量的关联性研究,但在理解其潜在机制的过程仍是艰难的,未来需要进一步探索。

5 *NT5C2* 与孤独症谱系障碍

孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 为广泛性发育障碍的典型疾病,对患者正常生活有极大影响,其病因尚未明确,近年来临床上多认为与基因异常改变有关^[20]。2019 年,一项针对 640 例中国北方汉族自闭症患者的研究结果显示 rs11191580 与孤独症谱系障碍无关^[21]; 2020 年,一项针对中国南方汉族中的 602 例 ASD 患者和 604 名健康受试者的对照研究,结果显示男童 rs11191580 与孤独症谱系障碍具有相关性。该研究显示在孤独症谱系障碍患者中 *NT5C2* 表达失调; 此外, rs11191580 还可以调节 *NT5C2* 在几个脑部亚组织的表达^[20]。两项研究的结果不一致,可能的原因是两者样本来源于不同区域,另外后者进行了对照研究,可靠度更高。 *NT5C2* 与 ASD 的相关性还需要在更大的样本中进行确认。

6 *NT5C2* 与遗传性痉挛性截瘫

遗传性痉挛性截瘫是一种罕见的异质性神经退行性疾病,一般伴有精神发育迟滞和运动障碍。cN-II 在维持脊髓和大脑嘌呤核苷酸和游离核苷酸的平衡中起着重要作用。 *NT5C2* 可以调节神经前体细胞中的蛋白质翻译,果蝇 *Nt5c2* 直系同源体的神经元表达在爬升实验中被证明会导致运动缺陷^[4]。有研究对一个沙特阿拉伯家庭的父母及两例遗传性痉挛性截瘫患儿 (年龄分别为 5 岁和 3 岁),以及 100 名健康人群 (作为对照组) 进行血样提取、全外显子测序和桑格测序,结果显示患儿在第 6 外显子/内含子交界处, *NT5C2* 可能有一个纯合子剪接体 (enst00000343289: c. 539+1G>T) 的供体改变,且进一步的对照组分析排除了突变的可能性,该剪接改变扩大了 *NT5C2* 在神经发育障碍中的突变谱,为进一步解释 *NT5C2* 与痉挛型双边麻痹性脑瘫、发育迟缓和头小畸形等之间的相关性提供了新的依据^[22]。尽管有这样的证据,未来仍需要用

NT5C2 敲除试验来证明两者间的相关性。

7 NT5C2 与冠心病

冠心病为全球致残和死亡的主要原因,而遗传因素为其发病关键因素之一。在 GWAS 汇总统计数据中显示 NT5C2 是冠心病的候选基因^[7]。最近,一项针对中国汉族人群的研究,纳入 501 例冠心病患者作为试验组和 496 名健康受试者作为对照组,基于 dbSNP database 等数据库选择在亚洲人群中最小等位频率大于 5% 的 NT5C2SNPs 进行检测,包括 rs79927334、rs7909022、rs2148198 和 rs79237883。结果显示 rs2148198 与汉族人群冠心病的风险密切相关;进一步分层分析显示 rs2148198 与男性以及 61 岁以下个体的冠心病风险增加有关^[23]。这些研究都表明了 NT5C2 与冠心病的相关性,为进一步探究其相关机制提供依据,未来需要更多深入的研究。

8 NT5C2 与血压

血压是卒中和冠状动脉疾病最强的遗传风险因素,与其相关的染色体 10q24.32 基因在人和斑马鱼之间高度保守。基于斑马鱼的研究显示,nt5c2 敲除可提高血流量、增加动脉脉搏等;在 nt5c2 敲除的情况下,抗高血压药物雷米普利无提高血流量的效果,表明 nt5c2 参与了高血压的发生。该研究还发现 nt5c2 敲除可诱导另一高血压相关基因 Cnnm2 下调,Cnnm2 敲除也可诱导 nt5c2 下调。此外,基因敲

除的斑马鱼模型还表现出肾功能受损、肾素水平升高,提示 nt5c2 和 Cnnm2 依赖的血流参数增加与肾素-血管紧张素-醛固酮信号通路相关^[24]。这表明 NT5C2 或是未来治疗高血压的基因靶点,为治疗高血压提供一个新方向。

9 问题与展望

综上所述,现有研究显示 NT5C2 与急性白血病、2 型糖尿病、精神分裂症、孤独症谱系障碍等多种疾病的发生、发展都可能具有相关性,相关突变机制及其在疾病发生、发展过程中的作用机制的阐明,可以为进一步认识疾病和临床诊疗提供依据。目前,针对 NT5C2 的研究主要集中在急性白血病,已有的研究证实 NT5C2 可通过影响核苷类似物的体内代谢而导致急性白血病治疗中相关药物耐药的产生和疾病的复发,国外越来越多的研究显示 cN-II 抑制剂的开发是防治 ALL 核苷类似物耐药和疾病复发的重要途径,并可见 cN-II 核苷类抑制剂相关的研究报道,为 ALL 耐药和复发提供了新的治疗策略和途径^[25]。而在 2 型糖尿病、精神分裂症等其余疾病中大多还停留在相关性研究,从相关性到了解其机制还有一段距离,仍需要相关的研究进行探索,同时,由于 NT5C2 广泛分布于机体各组织器官,可能参与了多种疾病的体内过程,未来进一步针对 NT5C2 在各疾病及治疗中的作用开展研究仍是必要的,而基于 NT5C2 及 cN-II 的新药研发也有望成为相关疾病的新治疗途径。

参考文献:

- [1] Pesi R, Allegrini S, Balestri F, et al. Cytosolic 5'-nucleotidase II is a sensor of energy charge and oxidative stress: a possible function as metabolic regulator [J]. Cells, 2021, 10:182.doi:10.3390/cells10010182
- [2] Goncharova IA, Bragina EY, Zhalsanova IZ, et al. Putative regulatory functions of SNPs associated with bronchial asthma, arterial hypertension and their comorbid phenotype [J]. Vavilovskii Zhurnal Genet Selektii, 2021, 25:855-863.
- [3] Jiang C, Yang W, Moriyama T, et al. Effects of NT5C2 germline variants on 6-mecaptopurine metabolism in children with acute lymphoblastic leukemia [J]. Clin Pharmacol Ther, 2021, 109:1538-1545.
- [4] Duarte RRR, Bachtel ND, Côté MC, et al. The psychiatric risk gene NT5C2 regulates adenosine monophosphate-activated protein kinase signaling and protein translation in human neural progenitor cells [J]. Biol Psychiatry, 2019, 86:120-130.
- [5] Moriyama T, Liu S, Li J, et al. Mechanisms of NT5C2-mediated thiopurine resistance in acute lymphoblastic leukemia [J]. Mol Cancer Ther, 2019, 18:1887-1895.
- [6] Johanns M, Kviklyte S, Chuang SJ, et al. Genetic

- deletion of soluble 5'-nucleotidase II reduces body weight gain and insulin resistance induced by a high-fat diet[J]. *Mol Genet Metab*, 2019,126:377-387.
- [7] Liu H, Sun Y, Zhang X, *et al.* Integrated analysis of summary statistics to identify pleiotropic genes and pathways for the comorbidity of schizophrenia and cardio-metabolic disease [J]. *Front Psychiatry*, 2020, 11: 256. doi:10.3389/fpsy.2020.00256.
- [8] Saliba J, Evensen NA, Meyer JA, *et al.* Feasibility of monitoring peripheral blood to detect emerging clones in children with acute lymphoblastic leukemia [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2020,67:e28306. doi:10.1002/pbc.28306
- [9] Hunsucker SA, Mitchell BS, Spychala J. The 5'-nucleotidases as regulators of nucleotide and drug metabolism[J]. *Pharmacol Ther*, 2005,107:1-30.
- [10] Walldén K, Stenmark P, Nyman T, *et al.* Crystal structure of human cytosolic 5'-nucleotidase II: insights into allosteric regulation and substrate recognition [J]. *J Biol Chem*, 2007,282:17828-17836.
- [11] Mazzone C, Rampazzo C, Scaini MC, *et al.* Cytosolic and mitochondrial deoxyribonucleotidases: activity with substrate analogs, inhibitors and implications for therapy[J]. *Biochem Pharmacol*, 2003,66:471-479.
- [12] Jeha S, Pei D, Choi J, *et al.* Improved CNS control of childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation: St Jude Total Therapy Study 16[J]. *J Clin Oncol*, 2019,37:3377-3391.
- [13] Hunger SP, Raetz EA. How I treat relapsed acute lymphoblastic leukemia in the pediatric population [J]. *Blood*, 2020,136:1803-1812.
- [14] Barz MJ, Hof J, Groeneveld-Krentz S, *et al.* Subclonal NT5C2 mutations are associated with poor outcomes after relapse of pediatric acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2020,135:921-933.
- [15] 王艳珍,安曦洲,刘江华,等.NT5C2 基因在儿童急性白血病中的表达及其临床意义[J]. *中华血液学杂志*, 2015,9:748-753.
- [16] 吴遐,郝磊,薛冰,等.NT5C2 在急性淋巴细胞白血病中表达水平的观察[J]. *中华检验医学杂志*, 2016, 39: 501-505.
- [17] Antić Ž, Yu J, Van Reijmersdal SV, *et al.* Multiclonal complexity of pediatric acute lymphoblastic leukemia and the prognostic relevance of subclonal mutations [J]. *Haematologica*, 2021,106:3046-3055.
- [18] 周海,吴晓玲,林明欣,等.基于网络药理学探讨加味桃核承气汤防治糖尿病肾病的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019,25:176-186.
- [19] Singgih EL, van der Voet M, Schimmel-Naber M, *et al.* Investigating cytosolic 5'-nucleotidase II family genes as candidates for neuropsychiatric disorders in drosophila (114/150 chr) [J]. *Transl Psychiatry*, 2021, 11:55. doi: 10.1038/s41398-020-01149-x.
- [20] Xie X, Liu F, Xue Q, *et al.* Association between NT5C2 rs11191580 and autism spectrum disorder in the Chinese Han population [J]. *Asian J Psychiatr*, 2020,53:102231. doi:10.1016/j.ajp.2020.102231.
- [21] Xie X, Liu F, Xue Q, *et al.* Association between NT5C2 rs11191580 and autism spectrum disorder in the Chinese Han population [J]. *Asian J Psychiatr*, 2020,53:102231. doi:10.1016/j.ajp.2020.102231.
- [22] Wang Z, Zhang J, Lu T, *et al.* Replication of previous GWAS hits suggests the association between rs4307059 near MSNP1AS and autism in a Chinese Han population [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2019, 92:194-198.
- [23] Naseer MI, Abdulkareem AA, Pushparaj PN, *et al.* Exome analysis identified novel homozygous splice site donor alteration in nt5c2 gene in a Saudi family associated with spastic diplegia cerebral palsy, developmental delay, and intellectual disability [J]. *Front Genet*, 2020,11:14. doi:10.3389/fgene.2020.00014.
- [24] Chen X, Zhang Z, Wang X, *et al.* NT5C2 gene polymorphisms and the risk of coronary heart disease [J]. *Public Health Genomics*, 2020,23:90-99.
- [25] Vishnolia KK, Hoene C, Tarhbalouti K, *et al.* Studies in zebrafish demonstrate that CNNM2 and NT5C2 are most likely the causal genes at the blood pressure-associated locus on human chromosome 10q24.32 [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2020,7:135. doi:10.3389/fcvm.2020.00135.
- [26] Dieck CL, Ferrando A. Genetics and mechanisms of NT5C2-driven chemotherapy resistance in relapsed ALL [J]. *Blood*, 2019,133:2263-2268.