

• 综述 •

选择性剪接调控蛋白 PTBP3 与恶性肿瘤相关性的研究进展*

陈彬¹综述, 孙珏¹, 谢曼丽¹, 陈伟霞², 赵爱光^{2△} 审校

(1. 上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科, 上海 200062; 2. 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科, 上海 200032)

摘要: 选择性剪接调控蛋白 PTBP3 是一种 RNA 结合蛋白, 存在于造血细胞、脑、肺、胃、乳腺等多种细胞中。长期以来 PTBP3 的功能未受到足够重视, 自从人们发现 PTBP3 是选择性剪接调控蛋白 hnRNP 家族中的一员, 在转录后调控中起着重要作用, 其研究开始取得一定进展, 发现 PTBP3 与多种恶性肿瘤的关系密切。PTBP3 在不同肿瘤中起到不同的作用, 这与选择性剪接的组织和环境依赖性密切相关。

关键词: 选择性剪接; PTBP3; 恶性肿瘤

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.19.022

文章编号: 1673-4130(2018)19-2420-03

基因表达的调控过程对细胞正常的生理功能和基因表达的多样性具有重要作用。正常情况下, 细胞增殖、分化、凋亡受到特定基因群严密调控, 这种调控一旦失衡就会引起细胞增殖、分化、凋亡等的异常, 与恶性肿瘤的发生密切相关。在众多调控机制中, 选择性剪接是真核生物中普遍存在的一种重要的转录后调控机制, 是基因表达调控的重要方式, 能使有限的基因表达出更多的蛋白, 使人们“一种基因只编码一种蛋白”的认识得以转变。人类基因 90%以上存在选择性剪接现象^[1], 研究发现多种遗传病及肿瘤的发生都涉及相关基因选择性剪接的异常^[2-9]。

选择性剪接到 SR 蛋白家族和 hnRNP 蛋白家族的调控。SR 蛋白家族通常作为激活蛋白^[10], 而 hnRNP 则作为抑制蛋白^[11], 两者的平衡对选择性剪接的正常起着重要作用^[12-13]。PTBP3 是一种 RNA 结合蛋白, 长期以来未受到足够重视, 随着人们发现 PTBP3 是选择性剪接调控蛋白 hnRNP 家族中的一员, PTBP3 的功能才逐渐受到重视, 并取得了一些重要的研究进展, 本文就 PTBP3 与恶性肿瘤的相关性作一简要综述。

1 PTBP3 的发现及命名

PTBP3 基因定位于染色体 9, 其编码的蛋白是一种 RNA 结合蛋白, 目前发现存在于造血细胞、脑、肺、胃、乳腺等多种细胞与组织中。PTBP3 最初由日本学者 YAMAMOTO 等^[14]在造血细胞中发现, 由于其发现 PTBP3 过表达能阻滞佛波醇酯和丁酸钠对 K562 白血病细胞的诱导分化作用, 但不影响其增殖, 所以认为这是一种细胞分化相关的调节蛋白, 故将其命名为分化调节因子 ROD1。PTB 又称 PTBP1, 是目前研

中图法分类号: R73; R-1

文献标识码: A

究最清楚的 hnRNP 蛋白^[15], 最新研究表明, ROD1 与 PTBP1 超过 70%的氨基酸序列一致, 具有相似的蛋白结构, 且均含有 4 个 RNA 结合区域(RRM)^[11]。因此认为 ROD1 是 hnRNP 蛋白家族中的一员, 能够调控前体 mRNA 的选择性剪接, 在转录后调控中起着重要作用, 并改名为 PTBP3。

选择性剪接是指一种前体 mRNA 通过不同的剪接方式(对不同的剪接位点的选择及不同外显子的组合)而产生具有不同外显子含量的 mRNA 剪接异构体的过程。通过选择性剪接能使同一种前体 mRNA 被剪接成具有不同阅读框的成熟 mRNA 分子, 进而会翻译成结构和功能相似或相反的蛋白质, 使得有限的基因表达出更多的蛋白^[16]。PTBP3 作为剪接负调控因子, 提供一种负调控机制, 具有抑制选择性剪接的功能, 相对于其同源蛋白 PTBP1 而言, PTBP3 的分子功能和生物学作用目前研究相对较少^[17]。

2 PTBP3 与恶性肿瘤

基因表达众多调节机制中除选择性剪接外, 还有一种重要的机制——无义介导的 mRNA 降解(NMD)机制。选择性剪接常与 NMD 相偶联, 当某种基因表达异常升高时, 通过选择性剪接产生可以被 NMD 机制降解的 mRNA 剪接异构体而下调该基因的表达, 从而维持细胞内基因正常的表达水平^[11]。如果选择性剪接异常则会引起 NMD 机制的紊乱, 癌基因表达会持续异常升高, 进而引起肿瘤等疾病的产生。

BRAZÃO 等^[18]研究发现 PTBP3 在 NMD 中同样具有重要作用, 其作用与上游移码突变体 UPF1、UPF2 类似, 是无义 mRNA 底物降解所必需的元件之

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81373861); 上海中医药大学预算内项目(2015YSN51)。

△ 通信作者, E-mail:genius1112@126.com。

本文引用格式: 陈彬, 孙珏, 谢曼丽, 等. 选择性剪接调控蛋白 PTBP3 与恶性肿瘤相关性的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(19): 2420-2422.

一。SPELLMAN 等^[11]和 TAN 等^[17]认为 PTBP3 不仅与 PTBP1 在细胞核内具有相似的调节 mRNA 选择性剪接的作用,而且在细胞质中对 mRNA 的稳定和翻译的调控作用比 PTBP1 更重要,并认为维持 PTBP3 与 PTBP1 之间平衡对淋巴细胞的生物学功能具有重要作用,同时 PTBP3 还可与线粒体中的 tRNA(Thr)相互作用^[19]。LIANG 等^[20]研究证实 PTBP3 同样可以通过选择性剪接机制调节 PTBP1 的表达,并进而影响 Bcl-x 的选择性剪接。

目前认为 PTBP3 主要通过参与前体 mRNA 选择性剪接和 NMD 过程,与多种恶性肿瘤发生发展关系密切。

2.1 PTBP3 与多形性胶质母细胞瘤 ZHANG 等^[21]发现 PTBP3 在多形性胶质母细胞瘤中表达比正常脑组织低,同时一种以 PTBP3 为靶基因的 MicroRNA——miR-210 在多形性胶质母细胞瘤中表达增多。进一步研究发现,miR-210 能促进多形性胶质母细胞瘤细胞增殖、抑制凋亡;通过抑制剂抑制 miR-210 表达及在抑制 miR-210 的同时敲低 PTBP3 的表达,发现 miR-210 抑制剂干预后细胞增殖减少、凋亡增加,而敲低 PTBP3 后这种细胞增殖减少、凋亡增加现象被逆转。因此,ZHANG 等^[21]认为 miR-210 促进多形性胶质母细胞瘤细胞增殖、抑制凋亡的作用是通过降低靶基因 PTBP3 的表达而实现的。

2.2 PTBP3 与乳腺癌 HOU 等^[22]研究发现 PTBP3 在乳腺癌患者中高表达,并且与乳腺癌患者 5 年生存率相关,是乳腺癌患者临床预后不良的预测指标。HOU 等^[22]发现 PTBP3 过表达后能促进乳腺癌细胞增殖和上皮细胞间充质转化(EMT),敲低 PTBP3 则能显著抑制乳腺癌细胞在裸鼠体内的生长和转移。ZEB1 蛋白是 EMT 的重要激活因子,可能是乳腺癌干细胞的调节因子,认为 PTBP3 通过结合并稳定 ZEB1 的 3' UTR,防止其 mRNA 降解而激活 ZEB1 表达,从而促进乳腺癌细胞增殖、转移、干细胞的产生及上皮细胞间充质转化,表明 PTBP3 过表达与乳腺癌的发生正相关。

2.3 PTBP3 与肺癌 PTBP3 在肺鳞癌组织中表达明显高于癌旁及正常组织,与肺癌的发病具有一定的相关性^[23]。TANO 等^[24]发现沉默肺癌细胞中一种与肿瘤转移相关的长链非编码 RNA——MALAT-1,能损害肺癌细胞的运动能力,并影响了细胞中包括 PTBP3 在内多种基因的表达,同时发现沉默 PTBP3 能明显抑制肺癌细胞的迁徙能力,因此认为 PTBP3 是一种与细胞运动能力相关的基因,MALAT-1 正是通过调控与细胞运动相关基因的表达而促进肿瘤转移。

2.4 PTBP3 与胃癌 CHEN 等^[25]发现胃癌组织中 PTBP3 表达较正常胃黏膜显著升高,沉默 PTBP3 后能抑制胃癌细胞增殖,并促进细胞分化。陈彬等^[26]分别使用 PTBP3 基因沉默的人胃癌 MKN45 细胞株和

正常 MKN45 细胞株构建皮下移植瘤模型,发现 PTBP3 基因沉默后移植瘤生长明显受到抑制,同时细胞中 STAT3、Bcl-2 等与细胞增殖、凋亡相关的癌基因的表达水平显著下降,表明 PTBP3 沉默后胃癌细胞生长抑制可能与 STAT3、Bcl-2 表达水平下降相关,并认为 PTBP3 可能通过选择性剪接等方式调控 STAT3、Bcl-2 等基因的表达而发挥促进移植瘤生长的作用。LIANG 等^[20]发现 PTBP3 沉默后能诱导胃癌细胞凋亡并引起细胞周期阻滞,同时发现 PTBP3 可以通过调节 PTBP1 的表达而参与 Bcl-x 的选择性剪接调控,而且进一步研究发现 PTBP3 能通过 HDAC6/Akt/TYMS 途径调节多药耐药相关蛋白的表达,降低胃癌细胞对化疗药物 5-Fu 的敏感性。

3 展望

选择性剪接的精准调控对大多数基因的正常表达起着关键作用,剪接因子活性、浓度、结构、定位的异常都影响 RNA 的结合,引起剪接位点识别的改变、转录的延长、DNA 损伤、NMD 机制的紊乱^[27-28],从而导致恶性肿瘤等各种疾病的发生^[29-32]。目前研究已表明,PTBP3 主要通过参与前体 mRNA 的选择性剪接过程,调节肿瘤相关基因的表达,从而与多种恶性肿瘤密切相关。虽然 PTBP3 在胃癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤中起到促癌作用,但在多形性胶质母细胞瘤却起到抑癌作用,可见 PTBP3 在不同肿瘤中具有不同的作用,这可能与选择性剪接的组织和环境依赖性密切相关^[33],具体机制有待进一步深入研究。

参考文献

- WANG E T, SANDBERG R, LUO S, et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes [J]. Nature, 2008, 456(7221): 470-476.
- CACERES J F, KORNBLIHT A R. Alternative splicing: multiple control mechanisms and involvement in human disease [J]. Trends in Genetics, 2002, 18(4): 186-193.
- SINGH R K, COOPER T A. Pre-mRNA splicing in disease and therapeutics [J]. Trends Mol Med, 2012, 18(8): 472-482.
- HAGEN R M, LADOMERY M R. Role of splice variants in the metastatic progression of prostate cancer [J]. Biochem Soc Trans, 2012, 40(4): 870-874.
- DAVID C J, MANLEY J L. Alternative pre-mRNA splicing regulation in cancer: pathways and programs unspliced [J]. Genes Dev, 2010, 24(21): 2343-2364.
- OLTEAN S, BATES D O. Hallmarks of alternative splicing in cancer [J]. Oncogene, 2014, 33(46): 5311-5318.
- VENABLES J P, KLINCK R, BRAMARD A, et al. Identification of alternative splicing markers for breast cancer [J]. Cancer Res, 2008, 68(22): 9525-9531.
- ROY B, HAUPT L M, GRIFFITHS L R. Review: alternative splicing (AS) of genes as an approach for genera-

- ting protein complexity[J]. Curr Genomics, 2013, 14(3): 182-194.
- [9] LI H D, MENON R, OMENN G S, et al. The emerging era of genomic data integration for analyzing splice isoform function[J]. Trends in Genetics, 2014, 30(8): 340-347.
- [10] GRAVELEY B R. Sorting out the complexity of SR protein functions[J]. RNA, 2000, 6(9): 1197-1211.
- [11] SPELLMAN R, LLORIAN M, SMITH C W. Crossregulation and functional redundancy between the splicing regulator PTB and its paralogs nPTB and ROD1[J]. Mol Cell, 2007, 27(3): 420-434.
- [12] DAGUENET E, DUJARDIN G, VALCARCEL J. The pathogenicity of splicing defects: mechanistic insights into pre-mRNA processing inform novel therapeutic approaches[J]. EMBO Rep, 2015, 16(12): 1640-1655.
- [13] TAZI J, BAKKOUR N, STAMM S. Alternative splicing and disease[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1792(1): 14-26.
- [14] YAMAMOTO H, TSUKAHARA K, KANAOKA Y, et al. Isolation of a mammalian homologue of a fission yeast differentiation regulator[J]. Mol Cell Biol, 1999, 19(5): 3829-3841.
- [15] WAGNER E J, GARCIA-BLANCO M A. Polypyrimidine tract binding protein antagonizes exon definition[J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(10): 3281-3288.
- [16] KALYNA M, SIMPSON C G, SYED N H, et al. Alternative splicing and nonsense-mediated decay modulate expression of important regulatory genes in Arabidopsis [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(6): 2454-2469.
- [17] TAN L Y, WHITFIELD P, LLORIAN M, et al. Generation of functionally distinct isoforms of PTBP3 by alternative splicing and translation initiation[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(11): 5586-5600.
- [18] BRAZÃO T F, DEMMERS J, VAN IJCKEN W, et al. A new function of ROD1 in nonsense-mediated mRNA decay[J]. FEBS Lett, 2012, 586(8): 1101-1110.
- [19] MARNEF A, JÁDY B E, KISS T. Human polypyrimidine tract-binding protein interacts with mitochondrial tRNA (Thr) in the cytosol[J]. Nucleic Acids Res, 2016, 44(3): 1342-1353.
- [20] LIANG X, SHI H Y, YANG L Y, et al. Inhibition of polypyrimidine tract-binding protein 3 induces apoptosis and cell cycle arrest, and enhances the cytotoxicity of 5-fluorouracil in gastric cancer cells[J]. Br J Cancer, 2017, 116(7): 903-911.
- [21] ZHANG S A, LAI N S, LIAO K M, et al. MicroRNA-210 regulates cell proliferation and apoptosis by targeting regulator of differentiation 1 in glioblastoma cells[J]. Folia Neuropathol, 2015, 53(3): 236-244.
- [22] HOU P, LI L, CHEN F, et al. PTBP3-mediated regulation of ZEB1 mRNA stability promotes epithelial-mesenchymal transition in breast cancer[J]. Cancer Res, 2018, 78(2): 387-398.
- [23] OOI A T, GOWER A C, ZHANG K X, et al. Molecular profiling of premalignant lesions in lung squamous cell carcinomas identifies mechanisms involved in stepwise carcinogenesis[J]. Cancer Prev Res (Phila), 2014, 7(5): 487-495.
- [24] TANO K, MIZUNO R, OKADA T, et al. MALAT-1 enhances cell motility of lung adenocarcinoma cells by influencing the expression of motility-related genes[J]. FEBS Lett, 2010, 584(22): 4575-4580.
- [25] CHEN B, ZHAO A G, SHAO J, et al. The effects of PTBP3 silencing on the proliferation and differentiation of MKN45 human gastric cancer cells[J]. Life Sci, 2014, 114(1): 29-35.
- [26] 陈彬, 慕晓艳, 赵爱光, 等. 胃肠安调控 PTBP3 对胃癌细胞中多基因表达的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2014, 19(5): 481-487.
- [27] JYOTSANA N, HEUSER M. Exploiting differential RNA splicing patterns: a potential new group of therapeutic targets in cancer[J]. Expert Opin Ther Targets, 2018, 22(2): 107.
- [28] BIAMONTI G, CATILLO M, PIGNATARO D A, et al. The alternative splicing side of cancer[J]. Semin Cell Dev Biol, 2014, 32(1): 30-36.
- [29] MIN F, WANG S M, ZHANG L. Survey of programs used to detect alternative splicing isoforms from deep sequencing data in silico[J]. Biomed Res Int, 2015, 20(6): 1-9.
- [30] ZHANG J, MANLEY J L. Misregulation of Pre-mRNA alternative splicing in cancer[J]. Cancer Discov, 2013, 3(11): 1228-1237.
- [31] DVINGE H, KIM E, ABDEL-WAHAB O, et al. RNA splicing factors as oncoproteins and tumour suppressors [J]. Nat Rev Cancer, 2016, 16(7): 413-430.
- [32] YOSHIDA K, SANADA M, SHIRAISHI Y, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia[J]. Nature, 2011, 478(7367): 64-69.
- [33] FU X D, ARES J. Context-dependent control of alternative splicing by RNA-binding proteins[J]. Nat Rev Genet, 2014, 15(10): 689-701.

(收稿日期:2018-01-24 修回日期:2018-04-12)