

SMG-1 在肿瘤疾病中的研究价值及进展

王庆光 许利剑

摘要 SMG-1 (suppressor with morphogenetic effect on genitalia-1, SMG-1) 是新发现的磷脂酰肌醇-3-激酶相关激酶 (the phosphoinositide 3-kinase-related kinase, PIKKs) 家族成员, 因其参与无义介导的 mRNA 降解 (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) 途径, 在基因毒性应激反应中维持基因组稳定性, 并参与细胞生长、增殖及凋亡等多个生物进程, 因此被应用到肿瘤疾病的发病机制及治疗等相关研究中并取得显著成果。本文将对 SMG-1 在肿瘤疾病中的研究进展进行阐述。

关键词 SMG-1 无义介导的 mRNA 降解 基因毒性应激反应 肿瘤

[中图分类号] R73

[文献标识码] A

在哺乳动物细胞内, PIKK 家族包括 6 个成员, 分别是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR), 共济失调毛细血管扩张症突变基因 (ATM), 共济失调毛细血管扩张症 Rad3 相关蛋白 (ATR), DNA 依赖蛋白激酶催化因子 (DNA-PKcs), 生殖器形成抑制基因 (SMG-1) 和转化/转录域相关蛋白 (TRRAP)。其中 SMG-1 是最新发现的成员, 因与秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 的 CeSMG-1 蛋白同源而得名。cDNA 文库测序显示 SMG-1 基因可编码含有 3031 个氨基酸的蛋白质, 该蛋白包含 1 个保守的激酶结构域、PIK 相关激酶独特的 C-末端结构域以及 FKBP12-雷帕霉素复合物的结合位点结构域 (与在 mTOR 中发现的类似)。人们对于 SMG-1 的认识始于其参与的无义介导的 mRNA 降解 (non-sense mRNA decay, NMD) 途径, 该途径能够迅速识别并降解因无义突变或移码突变产生的含有提前终止密码子 (premature termination codons, PTC) 的 mRNA, 避免具有潜在毒性的截短蛋白的产生。随着研究的深入, 人们发现 SMG-1 同 ATM、ATR 等 PIKK 蛋白激酶一样, 也在 DNA 损伤修复中发挥维持基因组稳定性的作用。但不同的是它还介导了包括 RNA 损伤在内的更为广泛的应激反应。为进一步探讨其价值, 有研究证实 SMG-1 基因敲除或突变后, 肿瘤细胞对放化疗及 TNF- α 诱导凋亡的敏感性显著提高, 提示该基因对抗癌药物或射线等诱导的肿瘤损伤具有保护作用, 可能是肿瘤耐药及抗辐射的潜在因素之一。最新研究显示 SMG-1 还参与调控细胞生长、增殖甚至有抑制肿瘤发生进展的

潜能。目前已有研究将其引入肿瘤的病因机制及相关治疗的研究。本文将归纳总结当前有关 SMG-1 的功能研究及在肿瘤中的研究进展。

一、NMD 途径

1. SMG-1 介导的 NMD 途径: NMD 途径是近年发现的一种在真核生物中广泛存在的高度保守的 RNA 监控机制, 也是研究比较透彻的 SMG-1 介导的功能之一。NMD 途径通过迅速识别并降解无义突变产生的含有提前终止密码子的转录产物, 阻止具有潜在毒害的截短蛋白的表达及堆积, 并且该途径还能够调节小部分正常转录^[1]。Yamashita 等^[2]发现抑制 SMG-1 活性后 NMD 途径也受到抑制, 后续研究证实 SMG-1 作为 Upf1 (up-frameshift protein) 磷酸化激酶, 是触发 NMD 反应的重要因子之一。在该途径中, SMG-1 能够通过 Upf1 相结合并促使其磷酸化, 同时与 eRF1、eRF3 形成 SURF (SMG1-Upf1-eRF) 复合物, 而磷酸化后的 Upf1 则继续招募 SMG-5/SMG-7 复合物并引发对无义 mRNA 的脱帽降解, 避免了缺陷 mRNA 的继续翻译^[3, 4]。尽管如此, 还是有少量的含有 PTC 的缺陷 mRNA 逃逸 NMD 途径的识别跟降解并最终翻译表达出 C 端截断蛋白, 而在这些蛋白中, 大部分并不具备原有正常功能, 或者竞争性抑制正常蛋白发挥作用, 或者获得其他异常功能, 此类蛋白堆积均会导致机体患病, 并引发相关表型^[5]。目前, NMD 途径的保护作用已被证实人类遗传病病因学中扮演着至关重要的角色。在已知人类疾病相关基因突变中, 约 30% 的突变产生了含 PTC 的 mRNA^[6]。例如 β -地中海贫血症和进行性小脑性共济失调及萎缩等已被证实是由于相关基因的外显子发生了无义突变, 最终导致相关蛋白无法正

作者单位: 210011 南京医科大学第二附属医院普外科

通讯作者: 许利剑, 电子信箱: xulijian185@126.com

常合成或合成量不足而致病^[7,8]。

2. NMD 途径在肿瘤发病机制中的研究:目前 NMD 途径也开始被引入到探究肿瘤疾病的相关研究中,并证实其与人类肿瘤疾病有着密切关系。Noensi 等^[9]提出可通过抑制 NMD 途径来鉴定肿瘤突变基因,其主要原理是干扰 NMD 途径的关键因子 SMG-1 和 hUpf1 的表达来抑制或弱化 NMD 途径的效应,再通过基因芯片技术比较基因表达的前后变化,表达上调者即可能为发生突变的抑癌基因。在此基础上,Paillusson 等^[10]提出采用 GFP 标记报告基因系统来监测 NMD,使研究更加形象直观。随后人们通过类似方法,在结肠癌、前列腺癌、乳腺癌及卵巢癌中均发现了相关的抑癌基因^[9,11,12]。目前研究已证实 BRCA1、p53 以及 WT1 等抑癌基因发生无义突变所产生的转录产物会被 NMD 途径识别并降解,从而丧失抗癌效应,最终诱发肿瘤形成^[13]。SMG-1 所介导的 NMD 途径作为 mRNA 转录后调节机制之一,在真核生物基因表达的监控方面扮演重要角色,并为肿瘤疾病的发病机制研究提供了新的思路及方法。

二、SMG-1 在应激反应中的作用及价值

1. SMG-1 介导的基因毒性应激反应:随着研究投入的增加,人们对 SMG-1 的认识也有了更全面的认知,国内外的研究者发现 SMG-1 不仅在 NMD 途径中发挥关键作用,而且还参与 DNA 损伤应激反应、氧化应激反应、缺氧及凋亡等多个生物进程^[14]。PIKK 在协调包括核苷酸损伤在内的多种基因毒性压力反应中发挥维持基因组稳定的重要作用。其中,ATM 和 DNA-PKcs 主要在 DNA 双链损伤应答中起作用,ATR 则主要参与单链 DNA 损伤及复制叉停滞的应激应答,但彼此之间并没有严格分界。后续研究证实 SMG-1 也能够感知 DNA 损伤,将 DNA 损伤信号转导到下游靶蛋白并通过级联放大反应启动应激系统,并诱导 p53 基因 serine 15 位点的磷酸化^[15]。Gehen 等、Brumbaugh 等也先后证实了 SMG-1 在基因毒性应激反应中能够通过活化 P53 和 P21 介导的蛋白水解作用来调节 G₁/S 周期进程,引起细胞周期的阻滞,为 DNA 修复提供时间。若涉及广泛的损伤,则激活凋亡机制引起细胞凋亡。

2. SMG-1 表达与肿瘤放化疗所致 DNA 损伤抗性的关系:Brumbaugh 等发现敲除 SMG-1 基因的人骨肉瘤细胞可出现自发性 DNA 损伤,并对辐射的敏感度显著增强。研究还发现 SMG-1 表达水平的差异使得人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)

阳性的头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)患者较 HPV 阴性者放化疗反应性较好,且前者的总生存率及无病生存率都明显高于后者,造成这种表达差异的原因是 HPV 中的转化基因 E6/E7 能够引起 SMG-1 基因启动子超甲基化,导致 SMG-1 表达下调,且学者们发现低 SMG-1 水平时能诱导更多的细胞凋亡,从而表现出对电离辐射的高敏感度。夏启胜等^[16]研究发现通过 siRNA 技术抑制 SMG-1 基因后,人肺癌 H1299 细胞株对顺铂及吉西他滨等化疗药物的敏感度有所增加,其机制与肿瘤细胞线粒体凋亡信号通路活性增强有关。此外,还发现胰腺癌 PANC-1 细胞在吉西他滨处理后可引起 miR-155/BIC 表达上调,而此效应能被 SMG-1 siRNA 显著抑制。在胰腺癌细胞中,升高的 miR-155 抑制一些抑癌基因的表达,促进癌细胞的生长。由此可推测,通过 siRNA 技术或药物等途径来下调 SMG-1 的表达可提高肿瘤细胞对放化疗的敏感度,从而改善肿瘤患者预后。

3. SMG-1 在氧化、缺氧应激中的作用:在秀丽隐杆线虫中 SMG-1 基因失活者的寿命较正常者延长,Ingrid 等证实其原因在于 SMG-1 失活引起虫体氧化抗性增强,并推测调控寿命的功能可能仍在哺乳动物中保存。TERRA 是端粒染色质转录产生的端粒重复单元的 RNA 序列,能够调节端粒酶的活性,对维持端粒稳定性起到重要作用。研究发现 SMG-1 在端粒中富集,通过调控 TERRA 与端粒染色质的结合及解离来维持端粒的稳定性,避免形成异常的 DNA/RNA 结构。缺氧时肿瘤细胞中 SMG-1 可被激活,通过部分阻断 MAPK 途径而抑制缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)的活性,进而减少低氧诱导的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和存活因子(carbonic anhydrase IX, CA9)的分泌,同时限制了肿瘤细胞的迁徙转移。通过检测 SMG-1 表达水平或变异情况可预测肿瘤患者对 MAPK 或血管形成抑制剂的治疗疗效,靶向上调 SMG-1 的药物联合血管形成抑制剂将可取得更优的疗效,将为肿瘤患者的治疗提供新的思路。

4. SMG-1 参与细胞因子介导的凋亡应激反应:人们发现 SMG-1 不仅像 ATM、ATR 一样存在于细胞核内,还可同时出现在胞质内。因此,研究者推测 SMG-1 除了介导紫外线照射、复制压力等介导的 DNA 损伤应激反应外,还可能在细胞因子及核外刺激所诱导的应激反应中发挥作用。为了验证此假设,

Oliveira 等通过检测 SMG-1 基因敲除前后对一些可诱导细胞死亡的因子的敏感度变化,发现了敲除了 SMG-1 基因后 U2OS 骨肉瘤细胞对 TNF- α 诱导其凋亡的速度及程度均明显增加。SMG-1 发挥的抗 TNF- α 诱导的凋亡效应是通过调节凋亡抑制因子 FLIP(FADD 样白介素-1 β 转换酶抑制蛋白)的降解来完成的。研究证实 SMG-1 及 NF- κ B 诱导激酶(NF- κ B-inducing kinase, NIK)在类 Smac 低分子及 TNF- α 治疗中可通过维持 c-FLIP 的水平,避免引发 caspase-8 依赖的凋亡途径。Meslin 等研究证实 SMG-1 是粒酶 B 应激反应激酶,在粒酶 B 介导的 DNA 损伤应激反应中具有不可替代的作用,一旦 SMG-1 基因敲除,粒酶 B 所诱导的靶细胞凋亡作用也随之削弱。虽然在这两治疗方案中 SMG-1 发挥的作用并不一致,但仍揭示了 SMG-1 表达情况对预测治疗效应的价值,也为治疗方案的抉择提供了理论依据。

前文所述的包括化疗药物、射线以及各种环境应激压力反应在内的研究中表明, SMG-1 表达水平及其活性在抗癌治疗中所起的作用并非一致,因此它的作用取决于疾病的类型及治疗策略。在不同疾病及治疗措施中,其在耐药或者增敏方面的价值还有待进一步验证。

三、SMG-1 调控生长及与肿瘤的关系

SMG-1 基因被认为是被忽视的新抑癌基因, COSMIC 数据库显示乳腺癌、肾癌及胃癌中均存在 SMG-1 基因的变异,并且在肺癌及黑色素瘤细胞系中其 mRNA 呈低表达水平。人类蛋白图谱分析报告显示在恶性淋巴瘤中无 SMG-1 的表达。因此 SMG-1 有抑制肿瘤产生的作用,但若缺失将大大增加罹患肿瘤的概率。然而此抑癌效应与 NMD 途径并无关联, Rouhana 等利用 RNAi 筛查技术抑制 NMD 途径的其他成分验证了 SMG-1 该效应的独特性。在涡虫实验中, SMG-1 通过抑制 mTOR 信号通路而协调生长调控,敲除 SMG-1 基因的涡虫则表现为无节制的增殖并且无分化能力,最终因形成肿瘤而死亡。为证实这种突变是否会导致细胞的非正常生长而引发癌症及进一步探究 SMG-1 在体内的生物学作用。研究人员构建了 SMG-1 基因缺陷小鼠模型,发现纯合子 SMG-1 敲除鼠因胚胎发育缺陷而死亡,仅有杂合子可存活,但寿命也较正常组缩短,原因在于此类小鼠有发生肿瘤的倾向。这些研究结果提示 SMG-1 是潜在的肿瘤抑制基因,一旦变异或缺失都将增加肿

瘤形成的风险。

然而目前研究还证实通过 siRNA 技术敲除 SMG-1 后的骨髓瘤细胞与对照组相比生存能力下降,同时急性髓性白血病中 SMG-1 mRNA 表达上调。而且降低 SMG-1 表达或者抑制其活性所导致 SMG-1 功能缺失引起的表型也各不相同。因此说明 SMG-1 功能的具有复杂性,为后续的研究提出了新的方向及挑战。

SMG-1 功能的具有多元性及复杂性, SMG-1 所介导的 NMD 途径及基因毒性应激反应都在一定程度上起到了保护性作用,减少了基因突变及突变引起表型,并在粒酶 B 等治疗研究中, SMG-1 的表达及酶活性是抗癌治疗起效或增效的决定因素, SMG-1 被认为是抑癌基因,一旦缺乏将导致肿瘤发生率升高。此外, SMG-1 所介导的基因毒性应激反应是化疗、放疗及 TNF- α 等治疗中耐药耐射线的因素之一,在骨髓瘤、急性髓性白血病等恶性肿瘤疾病中呈高表达。因此, SMG-1 所介导的角色并不一致,而 SMG-1 在癌症的发展过程中扮演的不同角色取决于疾病的类型、分期乃至所选择的治疗策略。鉴于 SMG-1 在化疗药物和放疗中的耐药效应以及在粒酶 B 和血管形成抑制剂等治疗中的增敏价值,完全可用于疗效评估,并依此为肿瘤患者提供合理的个性化治疗方案。同时 SMG-1 作为肿瘤抑制基因,目前关于其在肿瘤的发生、发展以及治疗方面的研究成果并不是很多,还需进一步地探讨 SMG-1 在癌症生物学中错综复杂的作用机制及其在肿瘤生物学中的地位跟价值。SMG-1 有望成为肿瘤治疗的突破点之一,为肿瘤疾病的诊治提供新的思路及方法。

参考文献

- 1 Nicholson P, Yepiskoposyan H, Metze S, *et al.* Nonsense-mediated mRNA decay in human cells: mechanistic insights, functions beyond quality control and the double-life of NMD factors[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(5):677-700
- 2 Yamashita A, Ohnishi T, Kashima I, *et al.* Human SMG-1, a novel phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinase, associates with components of the mRNA surveillance complex and is involved in the regulation of nonsense-mediated mRNA decay[J]. *Genes Dev*, 2001, 15(17):2215-2228
- 3 Hwang J, Maquat LE. Nonsense-mediated mRNA decay (NMD) in animal embryogenesis: to die or not to die, that is the question[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2011, 21(4):422-430
- 4 Yamashita A. Role of SMG-1-mediated Upf1 phosphorylation in mammalian nonsense-mediated mRNA decay[J]. *Genes Cells*, 2013, 18(3):161-175

(下转第 154 页)