

# SIPA1 在肿瘤中研究进展

李凤霞<sup>1</sup>, 张三元<sup>2</sup>, 李美蓉<sup>2</sup>

1. 山西医科大学, 山西 太原 030001; 2. 山西医科大学第一医院妇产科, 山西 太原 030001

**关键词:** 信号诱导增值相关基因 1; 恶性肿瘤; 抑癌基因; 侵袭; 转移; 单核苷酸多态性

**中图分类号:** R 73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)03-0427-03

近年来,恶性肿瘤的发病率亦逐渐升高。各种致癌因素作用于细胞致基因损伤,原癌基因激活、抑癌基因失活、凋亡程序的调节、DNA 修复基因等多元素作用,致细胞克隆性增生,基因的进一步损伤,细胞单克隆增生,最终导致肿瘤的发生。恶性肿瘤的发病潜伏期长,是多因素、多效应、多阶段的过程,从正常细胞到形成肿瘤,通常需要 10~20 年,甚至更长。正常细胞之间具有粘附作用,肿瘤细胞基因的改变,使其具有转移能力,而肿瘤的转移是肿瘤复发、治疗失败及死亡的主要原因。近年来,研究发现信号诱导增值相关基因 1 (SIPA1) 是与肿瘤侵袭转移相关的一种抑癌基因。本文就 SIPA1 基因及蛋白的研究作一综述。

## 1 SIPA1 基因的发现及结构

SIPA1 基因最初是 1995 年由 Hattori 等<sup>[1]</sup> 为了解释静止淋巴细胞第二次受到相同抗原刺激后产生强大的增值特性,从小鼠的淋巴细胞中发现的一种新的基因。1997 年 Kurachi 等<sup>[2]</sup> 克隆了人的 SIPA1 基因,该基因位于人类 11q13.3 染色体上。人 SIPA1 基因 cDNA 与小鼠 sipa1 的 cDNA 具有高度同源性<sup>[2]</sup>,90% 序列是一致的,其全长为 3600 碱基对,含一个编码 1 042 个氨基酸的单个开放阅读框,其 N 端与人类 Rap1-GTP 活性蛋白 GAP 存在高度相似性,其 C 端区域具有 PEST 序列和疏水的七价重复螺旋片段。

## 2 SIPA1 基因的多态性及其作用

人类基因组计划研究证明,不同个体的基因有 99.9% 是一样的,只在序列上有 0.1% 的遗传差异即单核苷酸多态性 (SNP)。简言之 SNP 就是一个基因位点的序列发生单个碱基的变化引起一种 DNA 序列的变化。正是这 0.1% 的差异使不同个体具有独特性,使人类对致病因素的敏感性与耐受性、疾病的临床表现及对治疗药物的反应也表现出了多样性。人类 SIPA1 基因在调节区域或编码区域至少包含 3 种常见的单核苷酸多态性 (SNPs)<sup>[3]</sup>: rs931127 (313A/G) 位于启动子区域; rs3741378 (545C/T) 编码外显子 3 区苯丙氨酸替代丝氨酸; rs746429 (2760G/A) 在外显子 14 区编码同义氨基酸 (丙氨酸) 的改变<sup>[4]</sup>。绝大多数肿瘤的发生是基因、环境和肿瘤易感因

素共同作用的结果。寻找和发现这些常见疾病相关的 DNA 多态位点,是揭示人类疾病发生机理的最重要途径之一<sup>[5]</sup>。

Crawford 等<sup>[6]</sup> 对 300 例乳腺癌患者进行了 SIPA1 基因的 SNP 检测,主要针对上述三种特征性的多态位点,发现 2760G/A 以及 313G/A 等位基因多态性与淋巴结转移相关,545C/T 等位基因多态性与雌、孕激素受体阴性相关。一项 Meta 分析显示,2760G/A 与乳腺癌的发生相关,313A/G 及 545C/T 与乳腺癌的发生没有相关性<sup>[7]</sup>。Mathieu 等<sup>[8]</sup> 对 20 例患者的黑色素瘤细胞株研究表明,除了促进生长和促进增殖的基因不断的发生突变外,黑色素瘤还有其他复杂的随机的基因改变,在 DNA 及 mRNA 水平上,不仅 Ras 基因、PTEN、AURKA、MAPK 抑制因子对黑色素瘤的发生产生了作用,且 SIPA1 也有参与其中,SIPA1 表达下调对细胞集落生成、粘附、迁移重要影响,从而有利于癌细胞的迁移。越来越多的证据提示,个体本身基因特点和肿瘤发展过程中的基因突变决定了肿瘤细胞的转移和患者的预后。庞大数量的 SNPs 构成了人类遗传变异,是人类在进化过程中为自然选择提供表型多样性的物质基础。SNP 发生部位不同,其功能可能不同。基因多态性与肿瘤发生、进展及治疗转归的关系需进一步研究。

## 3 SIPA1 蛋白的结构及功能

SIPA1 基因转录的蛋白质分子质量为 130 kD,该蛋白 C 末端含亮氨酸锌指结构,N 末端含 GTP 酶活化蛋白域<sup>[9]</sup>,其与 Rap1GAP 蛋白具有高度的同源性。通过功能学分析,SIPA1 蛋白具有 Rap-GTP 酶激活蛋白 (GAP) 活性,特别是对 Rap1 和 Rap2 的 GAP 活性,而对 Ras, Cdc42, Rac, Ran 没有活性。Rap-GAP 蛋白有 Rap1GAP 和 SIPA1 两个家族<sup>[10]</sup>,SIPA1 蛋白是一种特异性的 RapGAP 蛋白。SIPA1 蛋白位于细胞质中核周区域,与 Rap1、Rap2 的分布相同。SIPA1 蛋白主要是通过调控 Rap1 发挥细胞生物学功能,是其负性调节因子,调控 Rap1 信号转导通路<sup>[11]</sup>。Rap 参与细胞的许多功能,如钙离子信号转导、突触转导、细胞分泌等<sup>[12]</sup>。SIPA1 蛋白是通过提高 Rap1 的三磷酸鸟苷酶的活性,从而使 Rap1 从与三磷酸鸟苷结合时的激活状态向与 GDP 结合时的失活状态转变,由第二信使将信号转入细胞核内从而调节细胞信号的转导,进而调控细胞间的粘附。鸟苷酸结合蛋白又称 G 蛋白,是一类重要的信号通路开关,起到信号转导闸门的作用。Ras 是第一个被发现的低分子量 G 蛋白 (21 kD),这类蛋白亦被称作 Ras 超家族,因其均由一个 GTP 酶结构域构成,故又称 Ras 样 GTP 酶。Rap1

和 Ras 有高度的同源性<sup>[13]</sup>,有许多与 Ras 相似的功能,在调控细胞间连接、分泌、粘附等方面发挥重要作用<sup>[14]</sup>。SIP1 调节细胞间粘附分子(ICAM-1)诱导的细胞粘附<sup>[15]</sup>。此外,SIP1 还能够细胞骨架、突触传导中通过亮氨酸拉链等结构与其他蛋白共同发挥生物学效能<sup>[16]</sup>。SIP1 的表达与细胞的分化状态无明显关系,但在体内外能通过增加 RapGAP 的活性影响细胞分裂 G2 期到 M 期的进程<sup>[17]</sup>。SIP1 蛋白的这些功能有助于细胞间的粘附作用,抑制癌细胞的转移,若肿瘤中 SIP1 蛋白表达缺失,易于肿瘤的浸润和转移。

#### 4 目前 SIP1 在肿瘤的研究现状

4.1 SIP1 与血液系统恶性疾病 SIP1 在血液系统疾病中研究较早,可能是血液系统恶性肿瘤的抑制因子。在正常的骨髓细胞中均有 SIP1 蛋白和 Rap1GAP 表达,SIP1 负性调节 Rap1 信号通路<sup>[18]</sup>。造血祖细胞的 SIP1 在分化过程中逐渐被 RapGAP 替代,成熟的骨髓细胞中 SIP1 呈低表达。Ishida 等<sup>[19]</sup>利用基因敲除技术敲除小鼠的 SIP1 基因,培育出小鼠多出现髓细胞异常,表现明显的白血病症状。一部分小鼠表现为血中白细胞明显升高、肝脾肿大和骨髓增生,而增多的白细胞主要是成熟的粒细胞或小淋巴样细胞,与人慢性髓性白血病或慢性淋巴细胞白血病很相似;另一小部分小鼠表现为白细胞减少并伴严重贫血,与人骨髓增生异常综合征很相似,最终大部分小鼠进行性地发展为致死性白血病。由此可推测 SIP1 基因缺失使 Rap1 不能由结合 GTP 的活性形式转化为结合 GDP 的非活性形式,Rap1 的持续活化导致肿瘤发生。单个基因的缺陷即导致多种类型血液恶性疾病的发生,这一研究的报导引起了学者们的广泛关注。

4.2 SIP1 在乳腺癌中的研究 研究发现 SIP1 参与 Mtesl 基因控制的肺转移效率的调节,过表达 SIP1 的小鼠乳腺癌其肺转移活性明显增强,而表达下调则肺转移活性明显降低<sup>[20-21]</sup>。Crawford 等<sup>[6]</sup>研究发现在 SIP1 基因功能减弱时,肿瘤细胞可能易于从原发瘤逃逸。Hsieh 等<sup>[22]</sup>分析 1 863 例乳腺癌患者,对其基因组 DNA 进行分型。发现 SIP1 的 rs2448490 位点上为 AA 的患者的无转移生存时间较 AG 和 GG 组长,将 SIP1 和 Rb1b2 个基因的多态性联合起来,可预测乳腺癌患者的生存情况。但 Gaudet 等<sup>[23]</sup>从波兰和英国中随机选取 1 000 多例乳腺癌患者研究发现 SIP1 基因多态性并未增加乳腺癌细胞的转移能力,且与乳腺癌的生存率、病理分期、雌激素受体无关。Pei 等<sup>[24]</sup>运用 PCR 方法检测 570 例原发性乳腺癌患者及 541 例健康人群 SIP1 基因 545C/T 多态性与乳腺癌发病风险及临床病理特征的关系,发现 545C/T 基因多态性与乳腺癌患者发病年龄、淋巴结转移、TNM 分期、雌激素受体均无相关性,这与 Gaudet 研究结果相似。Zhang 等<sup>[25]</sup>研究表明,SIP1 蛋白是通过调节整合素  $\beta 1$  信号而促进乳腺癌的转移的。

4.3 SIP1 在前列腺癌的作用 Minato 等<sup>[26]</sup>研究发现在 scid 小鼠中低转移潜能的前列腺癌细胞株(LNCap)低表达 SIP1 蛋白,而高转移潜能的细胞株(PC3)高表达 SIP1 蛋白,将转染 SIP1 基因的 LNCap 细胞移植到 Scid 小鼠睾丸时表现出显

著增强的转移性,而原发瘤的大小无差别,转染 SIP1 siRNA 的 PC3 细胞转移率明显下降,提示 SIP1 主要起转移效率修饰剂的作用。Shimizu 等<sup>[27]</sup>发现 SIP1 蛋白在转移性前列腺癌比无转移性前列腺癌表达增加,其在控制前列腺转移中有重要的作用,可能是通过与细胞外基质相互作用而影响癌细胞的转移的。

4.4 SIP1 在肝癌中的研究 SIP1 目前在肝癌中的研究较少。刘合利等<sup>[28]</sup>研究发现 SIP1 在肝癌组织中的表达低于癌旁组织中的阳性表达,且有静脉侵袭的肝癌标本癌旁组织表达低于无静脉侵袭组。SIP1 蛋白在癌旁组织中表达存在个体差异,低表达组术后复发率更高、生存期更短。SIP1 在 HCC 中发挥肿瘤抑制基因的作用,且对抑制 HCC 的复发转移有重要作用。研究 SIP1 蛋白的低表达与 HCC 的肿瘤数目、分化程度差及静脉侵犯密切相关,但与肿瘤大小、Edmondson 分级及患者性别、年龄无相关。在裸鼠原位肝癌转移模型中,上调 SIP1 的表达也可使鼠内肝癌细胞的成瘤能力和侵袭能力明显下降,发现 SIP1 基因在肝癌组织中表现为抑制肿瘤转移的作用。

4.5 SIP1 在宫颈癌淋巴结转移中的研究 在宫颈癌中研究主要集中在 SIP1 与宫颈癌淋巴结转移的关系方面,而在转移机制中研究较少。研究发现 SIP1 基因多态性与宫颈癌淋巴结转移有关,Brooks 等<sup>[29]</sup>发现 SIP1 基因多态性中 rs931127GG 型可显著增加淋巴结转移的风险,在 rs746429 多态性中,有 304 例宫颈癌患者至少有一个 G 同位基因,大大增加淋巴结转移至腹主动脉的机率。SIP1 基因多态性的表达与种族、肿瘤病理类型、肿瘤大小无关。李东林等<sup>[30]</sup>研究发现 SIP1 表达水平低下或不表达将增加宫颈癌盆腔淋巴结转移风险,且在细胞株实验中进一步证实了 SIP1 基因表达可以抑制宫颈癌 HeLa 和 SiHa 细胞的迁移能力,过表达 SIP1 蛋白后两种细胞的迁移能力受到抑制。在研究高危型 HPV 病毒致宫颈癌发病机制中发现,SIP1 基因表达与 HPV E6 蛋白呈负相关,具体的影响机制尚不清楚,有可能通过抑制 ERK 信号通过产生生物学效应,这将为宫颈癌转移机制研究提供新的思路。

4.6 SIP1 在其他肿瘤中的研究 Xie 等<sup>[31]</sup>对中国 1 559 例肺癌患者研究发现 SIP1 基因位点:rs931127(313A/G)可能增加肺癌的浸润与转移。最新的一项研究提示,313A/G 与以放射治疗的小细胞性肺癌患者的总体生存率及无进展生存期也有关,可以成为判断小细胞肺癌患者预后的一个独立指标<sup>[32]</sup>。Feng 等<sup>[33]</sup>研究报道,SIP1 蛋白在系统性红斑狼疮肾病的及肾脏透明细胞癌中的肾小管中呈高表达,SIP1 可能在肾脏的病理变化中扮演者重要的角色,有可能成为诊断系统性红斑狼疮及透明细胞肾癌的一个肿瘤标志物。

#### 5 总结与展望

综上所述,SIP1 是肿瘤的负性调节因子,通过调控 Rap1 小 G 蛋白来影响细胞的粘附和增殖,进而影响肿瘤的侵袭转移。SIP1 表达下调对细胞集落生成、粘附、迁移有重要影响,从而促进癌细胞的迁移。但其确切的作用机制仍然有待进一

步深入研究。SIPA1 在白血病、肝癌、宫颈癌等肿瘤中发挥抑癌功能,在乳腺癌中作用仍需进一步研究。SIPA1 蛋白有望成为临床上预测淋巴结转移、制定手术方案、评估预后的参考指标。随着对 SIPA1 基因研究的深入,其有可能成为靶向治疗作用的分子靶点。

## 参考文献

- [1] Hattori M, Tsukamoto N, Nur-e-Kamal MS, et al. Molecular cloning of a novel mitogen-inducible nuclear protein with a RanGTPase-activating domain that affects cell cycle progression [J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(1):552-560.
- [2] Kurachi H, Wada Y, Tsukamoto N, et al. Human SPA-1 gene product selectively expressed in lymphoid tissues is a specific GTPase-activating protein for Rap1 and Rap2. Segregate expression profiles from a rap1GAP gene product [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(44):28081.
- [3] Packer BR, Yeager M, Burdett L, et al. SNP500Cancer: a public resource for sequence validation, assay development, and frequency analysis for genetic variation in candidate genes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(Database issue):D617-D621.
- [4] Hsieh SM, Lintell NA, Hunter KW. Germline polymorphisms are potential metastasis risk and prognosis markers in breast cancer [J]. *Breast Dis*, 2006/2007, 26:157-162.
- [5] 纪龙, 余红平. 单核苷酸多态性、环境因素与肝细胞肝癌遗传易感性的关系 [J]. *卫生研究*, 2009, 38(2):233-237.
- [6] Crawford NP, Ziogas A, Peel DJ, et al. Germline polymorphisms in SIPA1 are associated with metastasis and other indicators of poor prognosis in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2006, 8(2):R16.
- [7] Yi SM, Li GY. The association of SIPA1 gene polymorphisms with breast cancer risk; evidence from published studies [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(1):441-445.
- [8] Mathieu V, Pirker C, Schmidt WM, et al. Aggressiveness of human melanoma xenograft models is promoted by aneuploidy-driven gene expression deregulation [J]. *Oncotarget*, 2012, 3(4):399-413.
- [9] Rubinfeld B, Crosier WJ, Albert I, et al. Localization of the rap1GAP catalytic domain and sites of phosphorylation by mutational analysis [J]. *Mol Cell Biol*, 1992, 12(10):4634-4642.
- [10] Minato N. Rap G protein signal in normal and disordered lymphohematopoiesis [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(15):2323-2328.
- [11] Ohba Y, Ikuta K, Ogura A, et al. Requirement for C3G-dependent Rap1 activation for cell adhesion and embryogenesis [J]. *EMBO J*, 2001, 20(13):3333-3341.
- [12] Bos JL, de Bruyn K, Enserink J, et al. The role of Rap1 in integrin-mediated cell adhesion [J]. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31(Pt 1):83.
- [13] Cook SJ, Rubinfeld B, Albert I, et al. RapV12 antagonizes Ras-dependent activation of ERK1 and ERK2 by LPA and EGF in Rat-1 fibroblasts [J]. *EMBO J*, 1993, 12(9):3475-3485.
- [14] Raaijmakers JH, Bos JL. Specificity in Ras and Rap signaling [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(17):10995-10999.
- [15] Shimonaka M, Katagiri K, Nakayama T, et al. Rap1 translates chemokine signals to integrin activation, cell polarization, and motility across vascular endothelium under flow [J]. *J Cell Biol*, 2003, 161(2):417-427.
- [16] Minato N. Rap G protein signal in normal and disordered lymphohematopoiesis [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(15):2323-2328.
- [17] Farina A, Hattori M, Qin J, et al. Bromodomain protein Brd4 binds to GTPase-activating SPA-1, modulating its activity and subcellular localization [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(20):9059-9069.
- [18] Kometani K, Ishida D, Hattori M, et al. Rap1 and SPA-1 in hematologic malignancy [J]. *Trends Mol Med*, 2004, 10(8):401-408.
- [19] Ishida D, Kometani K, Yang H, et al. Myeloproliferative stem cell disorders by deregulated Rap1 activation in SPA-1-deficient mice [J]. *Cancer Cell*, 2003, 4(1):55-65.
- [20] Park YG, Zhao X, Lesueur F, et al. Sip1 is a candidate for underlying the metastasis efficiency modifier locus Mtes1 [J]. *Nat Genet*, 2005, 37(10):1055-1062.
- [21] Lancaster M, Rouse J, Hunter KW. Modifiers of mammary tumor progression and metastasis on mouse chromosomes 7, 9, and 17 [J]. *Mamm Genome*, 2005, 16(2):120-126.
- [22] Hsieh SM, Look MP, Sieuwerts AM, et al. Distinct inherited metastasis susceptibility exists for different breast cancer subtypes: a prognosis study [J]. *Breast Cancer Res*, 2009, 11(5):R75.
- [23] Gaudet MM, Hunter K, Pharoah P, et al. Genetic variation in SIPA1 in relation to breast cancer risk and survival after breast cancer diagnosis [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(7):1716-1720.
- [24] Pei R, Xu Y, Wei Y, et al. Association of SIPA1 545 C>T polymorphism with survival in Chinese women with metastatic breast cancer [J]. *Front Med*, 2013, 7(1):138-142.
- [25] Zhang Y, Gong Y, Hu D, et al. Nuclear SIPA1 activates integrin  $\beta$ 1 promoter and promotes invasion of breast cancer cells [J]. *Oncogene*, 2015, 34(11):1451-1462.
- [26] Minato N, Hattori M. Spa-1 (Sip1) and Rap signaling in leukemia and cancer metastasis [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(1):17-23.
- [27] Shimizu Y, Hamazaki Y, Hattori M, et al. SPA-1 controls the invasion and metastasis of human prostate cancer [J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(4):828-836.
- [28] 刘合利, 杨连粤, 陶一明, 等. SIPA1 基因在肝癌中的表达及其与肝癌预后的关系 [J]. *中华普通外科杂志*, 2007, 22(10):769.
- [29] Brooks R, Kizer N, Nguyen L, et al. Polymorphisms in MMP9 and SIPA1 are associated with increased risk of nodal metastases in early-stage cervical cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 116(3):539-543.
- [30] 李东林, 蔡晶, 况燕, 等. 信号诱导增殖相关蛋白 1 和 16、18 型人乳头瘤病毒 E6 蛋白在宫颈癌中的表达及临床意义 [J]. *实用妇产科杂志*, 2011, 27(10):754-758.
- [31] Xie C, Yang L, Yang X, et al. Sip1 promoter polymorphism predicts risk and metastasis of lung cancer in Chinese [J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52 Suppl 1:E110-E117.
- [32] Gdowicz-Klosok A, Giglok M, Drosik A, et al. The SIPA1-313A>G polymorphism is associated with prognosis in inoperable non-small cell lung cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(2):1273-1278.
- [33] Feng AP, Zhang Q, Li M, et al. High SIPA-1 expression in proximal tubules of human kidneys under pathological conditions [J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2015, 35(1):64-70.