

转化因子 2 β 蛋白的研究进展

何金¹, 张三元²

1. 山西医科大学, 山西 太原 030000; 2. 山西医科大学第一医院妇科, 山西 太原 030001

摘要: 转化因子 2 β (Tra2 β)基因为人类近年来发现的新型癌基因,编码 Tra2 β 蛋白,作为剪接因子维持细胞正常的选择性剪接功能。Tra2 β 蛋白已成为近年来研究的热门话题,目前已发现它在多种人类疾病和肿瘤中起着重要作用,有望成为靶向药物治疗研发中的新靶点。

关键词: 转化因子 2 β ; 脊髓性肌萎缩症; 肿瘤

中图分类号: Q 51 R 73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674 - 8182(2020)12 - 1715 - 05

转化因子 2 β (transformer 2 β , Tra2 β)基因为人类近年来发现的新型癌基因,编码 Tra2 β 蛋白,作为剪接因子维持细胞正常的选择性剪接功能。Tra2 β 蛋白已成为近年来研究的热门话题,目前已发现它在多种人类疾病和肿瘤中起着重要作用,有望成为靶向药物治疗研发中的新靶点。现就 Tra2 β 蛋白的生物学特点、功能作用及与疾病的发生发展作一综述。

1 Tra2 β 蛋白的生物学特点

1.1 Tra2 β 蛋白的来源 Tra2 β 蛋白也被称为富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子 10(SFRS10),由 Tra2 β 基因编码,位于人 3 号染色体上,由 10 个外显子和 9 个内含子组成,全长 21 232 bp,通过选择性剪接和使用其他启动子或聚腺苷酸化位点产生 5 种亚型(Tra2 β 1 至 Tra2 β 5)^[1],其中, Tra2 β 1 和 Tra2 β 4 是主要的亚型。Tra2 β 外显子 2 编码多个提前终止密码子。Tra2 β 1 mRNA 由除外显子 2 的第 1 ~ 10 外显子组成,可翻译为 Tra2 β 蛋白;Tra2 β 4 mRNA 包含所有 10 个外显子,因此不能编码全长蛋白^[2-3]。Tra2 β 1 和 Tra2 β 4 过度的异位表达可能是致癌的。Tra2 β 2 蛋白不翻译,可能是由无义密码子介导的 mRNA 降解所致^[4]。

Tra2 β 在物种间广泛表达,在蛋白质水平上与小鼠 SFRS10 完全一致。小鼠 SFRS10 基因大小为 20 kb,位于 16 号染色体上,跨越 10 个外显子。与果蝇的表型不同,小鼠普遍存在的 SFRS10 缺乏会导致胚胎的早起死亡^[5]。在雄性果蝇发现的 SFRS10 与人 Tra2 β 3 的结构域类似,主要在脑、肝、睾丸和肾脏中表达,并与富含丝氨酸/精氨酸的蛋白(SR)亚群相互作用,一起参与性分化和精子发生^[6]。果蝇 SFRS10 缺乏可能导致性逆转和不育,没有其他表型异常^[7]。由此可见, Tra2 β 在脊椎动物及非脊椎动物之间的进化具有显著的保守性^[1]。

1.2 Tra2 β 蛋白的结构特点 Tra2 β 蛋白是 SR 蛋白家族的成员,在细胞核中起着剪接调节器的作用,具有两个 RS 结构域,分别位于 N-和 C-末端,中间由结合 RNA 的结构域(RNA-

recognition motif, RRM) 隔开。它与经典的 SR 蛋白家族有许多共同特征,包括包含 RS 结构域和 RRM,但不能恢复 S100 提取物的体外剪接活性^[8-9]。RRMs 以协同模式与 RNA 序列结合以确定剪接特异性并将前 mRNA 底物提交到剪接途径^[10]。与 RNA 结合的 Tra2 β RRM 采用典型的 β 1 α 1 β 2 β 3 α 2 β 折叠。虽然 RNA 主要由 β -sheet 结合,但 RRM 的 N-和 C-末端的氨基酸也有所参与,该结构域形成一个正电荷槽,容纳 RNA。五个带正电荷的残基-Arg111、Arg159、Arg188、Arg190 和 His200 通过静电与 RNA 带负电荷的磷酸盐相互作用来稳定复合物^[11]。RS 结构域包含多个 RS 二肽重复序列,并在许多剪接体组装步骤中介导特异性蛋白质-蛋白质相互作用^[12]。

1.3 Tra2 β 蛋白的细胞定位 SR 蛋白是核磷蛋白,空间组织与其功能密切相关。SR 蛋白的穿梭在促进 mRNA 通过核孔的转运或具有细胞质功能方面起着多种作用,如调节翻译、mRNA 的稳定性和 mRNA 的定位等^[13]。在稳定状态下,包括 Tra2 β 在内的多种 SR 蛋白都位于被称为“核斑”的核亚区中,“核斑”相当于染色质间颗粒簇(IGCs),是剪接因子的储存和重组场所,并将剪接因子提供给附近的染色质周围纤维(PFs),在那里进行活性转录和剪接^[14-15]。有研究表明,体内选择性剪接可以通过降低核 SR 蛋白水平来调节^[16]。Tra2 β 亚细胞和亚核定位及其相关机制的研究将为全面了解 Tra2 β 相关事件提供分子基础,其定位不仅局限于细胞核,而且也在许多脑区的细胞质中高表达,并以组织和时间特异性模式受发育调控^[17]。Li 等^[10] 研究描述了 Tra2 β 的 RS 结构域和磷酸化,以及它们在核和核散斑定位中的作用。Tra2 β 主要定位在大脑皮层的细胞核、延髓和脑桥的细胞质中,提出 Tra2 β 在不同脑区的亚细胞定位可能与其磷酸化状态有关。

RS 重复序列中的丝氨酸和精氨酸残基在 Tra2 β 的亚细胞定位中起着不同的作用。核定位信号(NLSs)中的精氨酸簇是细胞核定位的必需条件,而丝氨酸残基的磷酸化增强了 Tra2 β 的细胞质积累,促进了胞浆的定位。N 端 RS1 结构至少包含两个序列,用于确定 Tra2 β 的核斑定位;序列中丝氨酸残基的

突变不影响定位^[17]。

此外, Tra2 β 的核质穿梭调节可能提供了一种相对于核内其他剪接因子控制 Tra2 β 浓度的机制。在这方面, 已经证明 p38 激酶诱导剪接抑制因子 hnRNP A1 从细胞核的移位对细胞质的渗透胁迫作出反应, 导致剪接位点选择发生改变^[13]。在缺血脑中, Tra2 β 在细胞质中积聚并高度磷酸化, 其靶 mRNA 的剪接位点选择也随之改变^[18]。因此, Tra2 β 穿梭可能提供一种通过定位来调节其对生理病理刺激的功能反应的方法。Tra2 β 的亚细胞和亚核定位将影响它与其他剪接因子的相对核浓度, 从而影响剪接水平上基因表达对信号的调节^[10]。

2 Tra2 β 蛋白的功能作用

Tra2 β 蛋白主要参与调控前体 mRNA 剪接, 从而调节基因表达。它以浓度依赖的方式调节降钙素/降钙素基因相关肽 (CGRP)、肌球蛋白磷酸酶靶向亚单位 1 (MYPT1)、活性运动神经元 (SMN) 和微管相关蛋白 tau 等基因的选择性剪接。有研究表明, Tra2 β 在乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌和肺癌中过度表达^[4, 19-20], 其已被证明与人类癌细胞的生存能力、致癌作用和化疗敏感性有关^[7]。

2.1 Tra2 β 蛋白通过调控选择性剪接导致组织特异性形成

尽管维持正常的选择性剪接会产生各种各样的多功能蛋白质组以确保细胞发挥正常作用, 但异常的选择性剪接可能直接或间接引起肿瘤的原始和新发现的特征^[21]。选择性剪接改变可通过影响癌基因的表达而导致恶性肿瘤。与肿瘤相关的异常选择性剪接分布是由于特定癌症基因的选择性剪接调节元件突变或剪接机械的变化所致^[22], 可促进细胞增殖、血管生成、抗药性和抑制细胞凋亡, 都有助于肿瘤表型的形成。大量的剪接靶点可能被错误剪接, 从而导致所有的癌症特征, 因此, 有人认为“表观遗传和 RNA 解除调控”形成了一个新的、独立的特征^[23]。选择性剪接的调控是由顺式作用剪接元件和反式作用因子的特异功能相互作用介导的。后者中有两个重要的剪接因子家族已经被确定: 异质核糖核蛋白 (hnRNP) 和富含 SR 的蛋白质^[24]。

Tra2 β 属于后者, 作为剪接因子维持正常 mRNA 的选择性剪接。这其中需要多个条件, 如: (1) 在小鼠大脑中含有 SFRS10-神经元的剪接分析表明, 在介导的 Nasp-T 和 Tra2 α 剪接中均有高频率的 Tra2 β 结合位点, 且均能与 Tra2 β 高效结合。在转录组范围内的 RNA 靶点数据集中, Nasp-T 外显子包含约 37 个 Tra2 β 结合位点; Tra2 α 外显子包含大约 12 个结合位点^[25]。相邻的 RNA 结合位点可能作为一个平台, 将多个 Tra2 β 蛋白组装成剪接激活物复合物, 这表明有效 Tra2 β 结合位点的组织结构以及有效位点的数量十分重要^[26]。有研究表明, Tra2 β 的主要 RNA 结合位点是富含类似 AGAA 的序列^[11, 27]。虽然用 NGAA 靶序列中的 C、G 或 T 核苷酸替换第一个 A 会降低结合效率(在 AGAA 和 NGAA 之间 Kd 值增加 2 倍), 但 NGAA 序列实际上足以进行结合^[11]。RRMs 还可能能够转换到 RNA 结合的第二种模式, 在这种模式中, 它与茎环结构内富含 CAA 的单链序列相互作用^[28]。尽管如此, Tra2 β

激活的外显子均富含腺嘌呤 (A), Tra2 β 激活能更频繁地编码高密度的亲水性氨基酸^[27]。(2) 选择性剪接模式可由 Tra2 β 细胞浓度的差异控制, 蛋白浓度增加导致靶外显子剪接包涵体水平增加^[28]。Tra2 β 蛋白通过调节毒外显子到自身 mRNA 的剪接内含物来调节自身的水平^[29-30]。(3) Tra2 β 可能通过调节在特定组织或细胞类型中被抑制的外显子从而被激活。Elliott 等^[31]提出, AS 的改变可能不是由 Tra2 β 蛋白浓度的改变直接驱动的, 而是由对抗 Tra2 β 的剪接抑制因子浓度的改变驱动的。例如, hnRNPA1 蛋白 (剪接抑制因子) 在生殖细胞发育过程中被下调^[32], 因此含有 Tra2 β 结合位点的去抑制外显子可能在此时被协同激活。

近年来, 一些研究表明 Tra2 β 受翻译后修饰的多步骤调控。Tra2 β 的 RRM 都包含蛋白质磷酸酶 1 (PP1) 的对接位点, PP1 对这些蛋白质的去磷酸化影响选择性剪接调节。PP1 通过直接结合其 RRM 使 Tra2 β 去磷酸化, 这是 Tra2 β 与其他调节蛋白 (如 ASF/SF2 和 SRp30c) 相互作用所必需的^[33]。另一项研究表明, PP1 相互作用的 DARPP-32 (多巴胺和环腺苷酸调节的磷酸蛋白, 32 kDa) 是 PKA 依赖性信号通路的一个组成部分, 与 Tra2 β 有关, 可改变剪接位点的选择^[34]。因此, Tra2 β 的磷酸化是选择性剪接的调控过程之一。这些结果表明, 细胞应激是通过 SR 蛋白家族修饰前体 mRNA 剪接的关键因素之一。与其他 SR 蛋白类似, Tra2 β 也应通过基因表达、前体 mRNA 剪接和磷酸化等多个步骤进行严格调控^[30]。

2.2 Tra2 β 蛋白与其他蛋白的相互调节

Nishikawa^[20]等研究结果表明, 异质核糖核蛋白 hnRNPA1 和 hnRNPU 与 Tra2 β 4 外显子 2 相互作用。微基因检测显示 hnRNPA1 促进了外显子 2 的包含, 而 hnRNPU 促进了其跳跃。敲低 hnRNPA1 或 hnRNPU 均会降低 Tra2 β 1 和 Tra2 β 4 的水平, 而且 hnRNPs 的过表达会增加这两个亚型的水平。实际上, hnRNPA1 和 hnRNPU 正调控 Tra2 β 的启动子活性, 电泳迁移率转移分析和染色质免疫沉淀分析显示, 在 Tra2 β 的启动子中存在 G-四链体 (G4) 的形成。G4 具有与转录、复制、端粒维持、DNA 损伤修复、总转录调控等有关的多种功能。G4 的形成抑制 Tra2 β 的转录, 而 hnRNPA1 与 G4 相互作用促进转录。因此提出, hnRNPA1 可能通过与启动子区域中的 G4 相互作用来调节 Tra2 β 转录。

Ets1 是一种新的 Tra2 β 表达调控因子, 调节各种细胞过程, 如细胞增殖、分化、凋亡和迁移^[35]。Singh 等^[36]观察到 Ets1 通过转录激活 cyclin E 和 CDK2 基因促进 G1/S 期转化, 从而加速细胞增殖。Kajita 等^[30]发现 Tra2 β 近端启动子的 166bp 对基础和亚砷酸盐诱导的 Tra2 β 基因转录都至关重要。Ets1 和 HSF1 分别调节结肠癌细胞 (HCT116) 细胞中 Tra2 β 基因的基础转录和亚砷酸盐诱导的转录, 表明转录调节对 Tra2 β 的表达是重要的, 提出肿瘤中氧化应激的增强可能上调 Ets1 并导致 Tra2 β 的过度表达。HSF1 还可能增加刺激过程。过度表达的 Tra2 β 至少部分通过改变靶基因的选择性剪接来刺激胃细胞系 (AGS) 的增殖^[37]。总之, 原癌基因 Ets1 对于人类 Tra2 β 基因的基本启动子活性至关重要。

目前已知的 Tra2 β 剪接靶点之一位于 CD44 前体 mRNA

内。CD44 蛋白作为透明质酸和其他分子的受体,通过调节细胞内信号级联控制与其他细胞、细胞外基质和细胞运动的相互作用^[38]。CD44 可变外显子在乳腺癌细胞中显示了可变剪接包涵体。特别是两个 CD44 内可变外显子(CD44v4 和 CD44v5),随着 Tra2 β 蛋白表达的增加,其在转染 HeLa 细胞中的剪接包涵体增加^[39]。尽管 CD44 外显子的表达与肿瘤转移有着密切的关系,但是关于 CD44 选择性剪接在肿瘤中的研究是复杂的。另一个剪接靶点可能为与癌细胞相关的同源结构域相互作用蛋白激酶(homeodomain interacting protein kinase, HIPK)3 基因,该基因编码一个丝氨酸/苏氨酸激酶,参与转录调控和细胞凋亡的负调控。高细胞水平的 Tra2 β 刺激了将名为 HIPK3-T 的毒性外显子剪接到 HIPK3 mRNA 中。正常的 HIPK3 蛋白集中在称为早幼粒白血病小体(PML 小体)的亚核结构中。在 Tra2 β 的控制下形成的较短的 HIPK3 蛋白同工型不能在 PML 体内定位,并且缺少预计与雄激素受体、Fas 和 p53 结合的蛋白区域^[38]。但这些变化仅限于人的睾丸组织中,尚未在肿瘤细胞中发现。

最新研究提出,体外敲除 Tra2 β 可显著降低 Hep-2 细胞的增殖、侵袭和迁移。Tra2 β 沉默降低了 Bcl-2 的表达,但增加了 Bax 和 caspase-3 在 mRNA 和蛋白水平上的表达。此外, Tra2 β 的敲除消除了 PI3K/AKT 信号激活的抑制作用。体内 Tra2 β 基因敲除显著抑制 Hep-2 注射的异种小鼠的肿瘤生长。Tra2 β 基因敲除至少部分通过抑制 PI3K/AKT 信号传导抑制了喉鳞状细胞癌细胞的增殖和侵袭^[40]。

3 Tra2 β 蛋白与疾病的发生发展

3.1 Tra2 β 蛋白与脊髓性肌萎缩症 Tra2 β 蛋白控制存活运动神经元(SMN)和 tau 基因的前 mRNA 剪接。这些基因的异常剪接分别与脊髓性肌萎缩(SMA)和额颞叶痴呆(FTD)有关。SMA 是导致儿童死亡的主要遗传因素之一。它是由功能性 SMN1 缺失引起的,但患者保留一个或多个相关 SMN2 基因的拷贝,这与 SMN1 不同的是,它有五种核苷酸替换,包括第 7 外显子 6 位的 C-T 转换^[41]。这种替换不影响阅读框,但它将 ESE 转化为阻遏物,从而阻止外显子 7 的包含^[42]。因此,大多数 SMN2 转录物被翻译成功能失调、截短的 SMN 蛋白。SMN1 和 SMN2 前体 mRNA 外显子 7 中间均存在 Tra2 β 1 结合位点^[8]。目前认为 Tra2 β 1 特异性地与该序列相互作用,并引入两个剪接因子 SRp30c 和 hnRNP G,从而激活 mRNA 中的外显子^[42-43]。在 SMN2 中,这种效应被 hnRNP A116、弱 5'剪接位点和内含子沉默抵消^[11]。因此,SMN2 产生的功能性 SMN 蛋白要少得多^[41]。这种功能性 SMN 的低产生不足以补偿 SMN1 表达的纯合性丢失^[44],并且,根据 SMN2 的拷贝数,患者遭受不同程度的神经肌肉变性。由于所有 SMA 患者至少有一个部分功能性 SMN2 基因,改善 SMN2 的剪接调控为提高功能性 SMN 蛋白水平提供了一种潜在的治疗策略。由于 Tra2 β 1 对 SMN2 外显子 7 的包含具有重要意义,准确了解其 RNA 识别模式将有助于开发合理的抗 SMA 治疗方法^[11]。

3.2 Tra2 β 蛋白与肿瘤 与正常细胞相比,癌细胞剪接模式的改变可能通过影响调节细胞行为的重要蛋白质亚型的表达

而形成每一种癌症特征。癌细胞发生剪接改变的部分原因是核心剪接体成分的活性和表达的改变,以及调节外显子包涵体的 RNA 结合蛋白的变化^[19]。癌细胞剪接环境的改变可能具有治疗意义,已开始研发的以剪接体为靶点的新型药物将成为治疗癌症患者的潜在疗法。

3.2.1 Tra2 β 蛋白与子宫内膜癌 子宫内膜癌为女性生殖系统三大恶性肿瘤之一,以来源于子宫内膜腺体的腺癌最为常见,近年来子宫内膜癌的发病率逐年上升,且逐渐低龄化。Paudel 等^[45]研究表明 Tra2 β 在子宫内膜癌细胞中的表达水平明显高于正常内膜细胞,推测 Tra2 β 可能与子宫内膜癌有关,甚至影响子宫内膜癌细胞的存活、增殖、侵袭和凋亡。CCK-8 检测显示 siRNA 敲除 Tra2 β 可降低子宫内膜癌细胞的活力。Tra2 β 的下调能够抑制子宫内膜癌细胞的增殖, Tra2 β 沉默后子宫内膜癌细胞的侵袭能力降低, Tra2 β 的丢失促进了癌细胞凋亡。实验表明 Tra2 β 的敲除降低了子宫内膜癌细胞的活性、增殖和侵袭,但诱导了子宫内膜癌细胞的凋亡,提示 Tra2 β 可能成为预测子宫内膜癌预后的指标。

3.2.2 Tra2 β 蛋白与乳腺癌 Park 等^[46]证实,在乳腺癌中 Tra2 β 的上调扰乱了 MCF-10A 细胞的腺泡形态发生,促进细胞增殖和侵袭。在 MDA-MB231 细胞中, Tra2 β 控制与细胞侵袭、Wnt 信号、细胞极性、细胞周期和转录控制相关的靶基因选择性剪接。此外, Tra2 β 控制 CHK1 外显子 3 的剪接,使 CHK1 蛋白能够成功地监测 DNA 损伤和控制细胞周期进程,并减少快速分裂癌细胞的复制应激^[47]。Tra2 β 的过度表达显著促进了 CD44 基因中心可变区的包含,促进 CD44 基因的选择性剪接与 CD44 外显子 v4 和 v5 结合,导致人类乳腺癌和 AGS 细胞的生长^[39]。在小鼠模型中敲除 Tra2 β 基因虽然不影响原发性肿瘤的形成及大小,但能明显降低转移灶的数量及肺、肝的转移负荷。临床资料对比显示, Tra2 β 的高水平与总体生存率和无远处转移生存率的降低有关。总的来说, Tra2 β 及其靶点在乳腺癌转移起始和维持中起调节作用^[48]。

3.2.3 Tra2 β 蛋白与非小细胞肺癌 肺癌通常在晚期诊断,预后较差。肺癌中发现的异常的选择性剪接模式有助于重要的细胞功能。这些变化包括肺肿瘤发生过程中 BCL2L1、MDM2、MDM4、NUMB 和 MET 基因剪接的变化,从而影响涉及细胞凋亡、细胞增殖和细胞内聚力。其中, QKI、RBM4、RBM5、RBM6、RBM10 和 SRSF1 蛋白表达的变化是肺癌细胞中最常发生的调控选择性剪接事件^[21]。有研究表明, Tra2 β 的过度表达促进体外非小细胞肺癌(NSCLC)细胞的增殖,并与 NSCLC 患者预后较差相关^[48]。非小细胞肺癌中 Tra2 β 表达上调可诱导多种异常剪接事件。Tra2 β 的下调通过调节凋亡相关蛋白的表达抑制 A549 细胞的增殖、侵袭和诱导凋亡^[48-49]。肺鳞癌中 Tra2 β 的显著扩增及其对许多剪接事件的重要性提示该基因可能作为肺癌中异常剪接的主调节因子^[21,47]。

3.2.4 Tra2 β 蛋白与结肠癌 结肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一,发病率仅次于胃癌,五年生存率较低。Satake 等^[3]研究发现 Tra2 β 4 在结肠癌细胞中高表达,核仁蛋白的敲除降低了 Tra2 β 4 在细胞质中的保留并加速了其降解,而核仁蛋白

的过表达增加了 Tra2 β 4 的水平及其有丝分裂活性。核苷通过富含甘氨酸/精氨酸(GAR)结构域直接与 Tra2 β 4 外显子 2 结合。缺 GAR 核仁蛋白的过表达不能促进结肠癌细胞 Tra2 β 4 的表达和生长。RNA 荧光原位杂交显示 Tra2 β 4 与核仁蛋白在细胞核内共定位,而与缺失 GAR 的突变体没有共定位。这表明,核仁蛋白与含“超保守区”(UCR)的 Tra2 β 4 之间的特异性相互作用可能与结肠癌细胞的异常生长有关^[3]。

Nishikawa 等^[20]提出氧化应激通过热激因子 114 刺激 Tra2 β 转录,并通过 HuR13 刺激 Tra2 β 4 的产生。Tra2 β 4 通过与 nucleolin15 结合优先在人类结肠癌细胞的细胞核中表达,从而促进异常细胞生长。过度表达 Tra2 β 可通过与 miR-204 竞争增加 Bcl-2 的表达, Tra2 β 与 BCL2 3'-UTR 相互作用并促进结肠癌细胞的异常生长^[50]。此外, Tra2 β 4 通过抑制与 CDKN1A 启动子结合的 Sp1 来下调 p21 的表达,从而加速癌细胞的生长。Tra2 β 4 在结肠癌细胞中的敲除通过 p21 诱导导致细胞衰老^[2]。Tra2 β 的沉默通过 caspase 依赖方式导致 HCT116 细胞凋亡^[30]。基于这些发现,意味着 Tra2 β 4 是导致癌细胞周期异常调控的关键分子之一, Tra2 β 和 Tra2 β 4 均被视为治疗结肠癌的新靶点。

3.2.5 Tra2 β 蛋白与恶性胶质瘤 恶性胶质瘤是中枢神经系统中最常见和最致命的肿瘤。Tra2 β 的表达随着时间的推移逐渐增加,与 PCNA 和 cyclin A 的表达一致,均为增殖标志物。提示 Tra2 β 与胶质瘤的增殖有关,参与胶质瘤的细胞周期。Tra2 β 的表达与恶性胶质瘤临床病理分级明显相关。此外, Tra2 β 的上调与核局部 Ki67 的高表达显著相关。Kaplan-Meier 生存曲线显示, Tra2 β 的上调与总体生存率低显著相关。Tra2 β 基因敲除导致 G0/G1 期阻滞,与对照 siRNA 相比, S 期细胞数量减少,表明细胞周期 G0/G1-S 转换需要 Tra2 β 。此外,在胶质瘤细胞的跨孔迁移实验中,与非干扰细胞相比, U87 和 251-MG si Tra2 β -3 细胞中穿过微孔膜的细胞百分比显著降低。表明 Tra2 β 的干扰表现出明显的胶质瘤细胞运动抑制作用。同时发现,胶质瘤患者手术切除后 Tra2 β 的高表达与预后不良显著相关。siRNA 沉默 Tra2 β 可下调 U87 和 U251-MG 细胞 PCNA 和 cyclin A 的表达。总之, Tra2 β 与胶质瘤的增殖和迁移有关,是肿瘤发生发展的重要过程。siRNA 介导的 Tra2 β 抑制在胶质瘤治疗中具有巨大的应用潜力^[51]。

4 小 结

目前研究已明确 Tra2 β 蛋白参与了多种特异性剪接的发生,与多种疾病的发生发展有关。基因编辑、基因敲除技术作为一种新的治疗手段,已经在许多动植物体实验中取得了巨大的成就,在一些疾病的靶向药物治疗中也颇有成效,我们期待 Tra2 β 能够成为靶向治疗研究中的新靶点之一,促进其在相关疾病中取得更多的疗效。

参 考 文 献

[1] Nayler O, Cap C, Stamm S. Human transformer-2-beta gene (SFRS10): complete nucleotide sequence, chromosomal localization, and generation of a tissue-specific isoform [J]. *Genomics*, 1998, 53

(2):191-202.

- [2] Kajita K, Kuwano Y, Satake Y, et al. Ultraconserved region-containing Transformer 2 β 4 controls senescence of colon cancer cells [J]. *Oncogenesis*, 2016, 5(4):e213.
- [3] Satake Y, Kuwano Y, Nishikawa T, et al. Nucleolin facilitates nuclear retention of an ultraconserved region containing TRA2 β 4 and accelerates colon cancer cell growth [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(42):26817-26833.
- [4] 鲁凤凤,李政灏,邵麒,等. Tra2 β 蛋白的生物学特点及功能研究进展 [J]. *生命的化学*, 2018, 38(1):78-84.
- [5] Mende Y, Jakubik M, Riessland M, et al. Deficiency of the splicing factor Sfrs10 results in early embryonic lethality in mice and has no impact on full-length SMN/Smn splicing [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(11):2154-2167.
- [6] Baker BS. Sex in flies: the splice of life [J]. *Nature*, 1989, 340(6234):521-524.
- [7] Munkley J, Livermore K, Rajan P, et al. RNA splicing and splicing regulator changes in prostate cancer pathology [J]. *Hum Genet*, 2017, 136(9):1143-1154.
- [8] Hofmann Y, Lorson CL, Stamm S, et al. Htra2-beta 1 stimulates an exonic splicing enhancer and can restore full-length SMN expression to survival motor neuron 2 (SMN2) [J]. *PNAS*, 2000, 97(17):9618-9623.
- [9] Tacke R, Tohyama M, Ogawa S, et al. Human Tra2 proteins are sequence-specific activators of pre-mRNA splicing [J]. *Cell*, 1998, 93(1):139-148.
- [10] Li SJ, Qi Y, Zhao JJ, et al. Characterization of nuclear localization signals (NLSs) and function of NLSs and phosphorylation of serine residues in subcellular and subnuclear localization of transformer-2 β (Tra2 β) [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(13):8898-8909.
- [11] Cléry A, Jayne S, Benderska N, et al. Molecular basis of purine-rich RNA recognition by the human SR-like protein Tra2- β 1 [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, 18(4):443-450.
- [12] Fu XD. The superfamily of arginine/serine-rich splicing factors [J]. *RNA*, 1995, 1(7):663-680.
- [13] van der Houven van Oordt W, Diaz-Meco MT, Lozano J, et al. The Mkk3/6-p38 - signaling cascade alters the subcellular distribution of hnmp A1 and modulates alternative splicing regulation [J]. *J Cell Biol*, 2000, 149(2):307-316.
- [14] Spector DL. Macromolecular domains within the cell nucleus [J]. *Annu Rev Cell Biol*, 1993, 9:265-315.
- [15] Huang S, Spector DL. Intron-dependent recruitment of pre-mRNA splicing factors to sites of transcription [J]. *J Cell Biol*, 1996, 133(4):719-732.
- [16] Misteli T, Spector DL. Protein phosphorylation and the nuclear organization of pre-mRNA splicing [J]. *Trends Cell Biol*, 1997, 7(4):135-138.
- [17] Chen X, Guo L, Lin W, et al. Expression of Tra2beta isoforms is developmentally regulated in a tissue-and temporal-specific pattern [J]. *Cell Biol Int*, 2003, 27(6):491-496.
- [18] Daoud R, Mies G, Smialowska A, et al. Ischemia induces a translocation of the splicing factor tra2-beta 1 and changes alternative splicing patterns in the brain [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(14):5889-5899.

- [19] Best A, Dalglish C, Ehrmann I, et al. Expression of Tra2 β in cancer cells as a potential contributory factor to neoplasia and metastasis [J]. *Int J Cell Biol*, 2013, 2013: 843781.
- [20] Nishikawa T, Kuwano Y, Takahara Y, et al. HnRNPA1 interacts with G-quadruplex in the TRA2B promoter and stimulates its transcription in human colon cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 10276.
- [21] Coomer AO, Black F, Greystoke A, et al. Alternative splicing in lung cancer [J]. *Biochim et Biophys Acta BBA-Gene Regul Mech*, 2019, 1862(11/12): 194388.
- [22] Urbanski LM, Leclair N, Anczuków O. Alternative-splicing defects in cancer; Splicing regulators and their downstream targets, guiding the way to novel cancer therapeutics [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2018, 9(4): e1476.
- [23] Imielinski M, Berger AH, Hammerman PS, et al. Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing [J]. *Cell*, 2012, 150(6): 1107–1120.
- [24] Zhang X, Moor AN, Merkler KA, et al. Regulation of alternative splicing of liver scavenger receptor class B gene by estrogen and the involved regulatory splicing factors [J]. *Endocrinology*, 2007, 148(11): 5295–5304.
- [25] Grellscheid S, Dalglish C, Storbeck M, et al. Identification of evolutionarily conserved exons as regulated targets for the splicing activator Tra2 β in development [J]. *PLoS Genet*, 2011, 7(12): e1002390.
- [26] Grellscheid SN, Dalglish C, Rozanska A, et al. Molecular design of a splicing switch responsive to the RNA binding protein Tra2 β [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(18): 8092–8104.
- [27] Fontrodona N, Aubé F, Claude JB, et al. Interplay between coding and exonic splicing regulatory sequences [J]. *Genome Res*, 2019, 29(5): 711–722.
- [28] Tsuda K, Someya T, Kuwasako K, et al. Structural basis for the dual RNA-recognition modes of human Tra2- β RRM [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(4): 1538–1553.
- [29] Stoilov P. Human tra2-beta1 autoregulates its protein concentration by influencing alternative splicing of its pre-mRNA [J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(5): 509–524.
- [30] Kajita K, Kuwano Y, Kitamura N, et al. Ets1 and heat shock factor 1 regulate transcription of the Transformer 2 β gene in human colon cancer cells [J]. *J Gastroenterol*, 2013, 48(11): 1222–1233.
- [31] Elliott DJ, Best A, Dalglish C, et al. How does Tra2 β protein regulate tissue-specific RNA splicing? [J]. *Biochem Soc Trans*, 2012, 40(4): 784–788.
- [32] Kamma H, Portman DS, Dreyfuss G. Cell type-specific expression of hnRNP proteins [J]. *Exp Cell Res*, 1995, 221(1): 187–196.
- [33] Novoyatleva T, Heinrich B, Tang YS, et al. Protein phosphatase 1 binds to the RNA recognition motif of several splicing factors and regulates alternative pre-mRNA processing [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(1): 52–70.
- [34] Benderska N, Becker K, Girault JA, et al. DARPP-32 binds to tra2-beta1 and influences alternative splicing [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(5/6): 448–453.
- [35] Hsu T, Trojanowska M, Watson DK. Ets proteins in biological control and cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2004, 91(5): 896–903.
- [36] Singh AK, Swarnalatha M, Kumar V. C-ETS1 facilitates G1/S-phase transition by up-regulating cyclin E and CDK2 genes and cooperates with hepatitis B virus X protein for their deregulation [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(25): 21961–21970.
- [37] Takeo K, Kawai T, Nishida K, et al. Oxidative stress-induced alternative splicing of transformer 2 β (SFRS10) and CD44 pre-mRNAs in gastric epithelial cells [J]. *Am J Physiol-Cell Physiol*, 2009, 297(2): C330–C338.
- [38] Venables JP, Bourgeois CF, Dalglish C, et al. Up-regulation of the ubiquitous alternative splicing factor Tra2 β causes inclusion of a germ cell-specific exon [J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(16): 2289–2303.
- [39] Watermann DO, Tang YS, zur Hausen A, et al. Splicing factor Tra2- β 1 is specifically induced in breast cancer and regulates alternative splicing of the CD44 gene [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(9): 4774–4780.
- [40] Ni HS, Hu SQ, Chen X, et al. Tra2 β silencing suppresses cell proliferation in laryngeal squamous cell carcinoma via inhibiting PI3K/AKT signaling [J]. *Laryngoscope*, 2019, 129(9): E318–E328.
- [41] Burghes AH, Beattie CE. Spinal muscular atrophy: why do low levels of survival motor neuron protein make motor neurons sick? [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10(8): 597–609.
- [42] Kashima T, Manley JL. A negative element in SMN2 exon 7 inhibits splicing in spinal muscular atrophy [J]. *Nat Genet*, 2003, 34(4): 460–463.
- [43] Young PJ, DiDonato CJ, Hu D, et al. SRp30c-dependent stimulation of survival motor neuron (SMN) exon 7 inclusion is facilitated by a direct interaction with hTra2 beta 1 [J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11(5): 577–587.
- [44] Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene [J]. *Cell*, 1995, 80(1): 155–165.
- [45] Paudel D, Ouyang Y, Huang Q, et al. Expression of TRA2B in endometrial carcinoma and its regulatory roles in endometrial carcinoma cells [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(3): 2455–2463.
- [46] Park S, Brugiolo M, Akerman M, et al. Differential functions of splicing factors in mammary transformation and breast cancer metastasis [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(9): 2672–2688.
- [47] Best A, James K, Dalglish C, et al. Human Tra2 proteins jointly control a CHEK1 splicing switch among alternative and constitutive target exons [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4760.
- [48] Ji L, Ni T, Shen Y, et al. Transformer 2 β (Tra2 β /SFRS10) positively regulates the progression of NSCLC via promoting cell proliferation [J]. *J Mol Histol*, 2014, 45(5): 573–582.
- [49] Tsukamoto Y, Matsuo N, Ozawa K, et al. Expression of a novel RNA-splicing factor, RA301/Tra2 β , in vascular lesions and its role in smooth muscle cell proliferation [J]. *Am J Pathol*, 2001, 158(5): 1685–1694.
- [50] Kuwano Y, Nishida K, Kajita K, et al. Transformer 2 β and miR-204 regulate apoptosis through competitive binding to 3' UTR of BCL2 mRNA [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(5): 815–825.
- [51] Yang L, Tao T, Wang Y, et al. Knocking down the expression of TRA2 β inhibits the proliferation and migration of human glioma cells [J]. *Pathol Res Pract*, 2015, 211(10): 731–739.