

· 综 述 ·

Girdin 蛋白与肿瘤的关系及其作用机制的研究进展*

孙德云,施智甜 综述,王 琳[△] 审校

(昆明医科大学第二附属医院肝胆外科,昆明 650101)

关键词:肌动蛋白类;分子结构;信号传导;肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.02.033

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)02-0220-03

Girdin 蛋白是 2005 年分别由日本、澳大利亚和美国的学者相继各自独立发现并报道的一种细胞内大分子蛋白,是一种新发现的普遍存在于人体不同组织中的肌动蛋白骨架结合蛋白。Girdin 蛋白因其发现时功能的不同又被命名为 APE、HkRP1、GIV。东京大学的研究者发现该蛋白能促进 Akt 的磷酸化,因而将它命名为 Akt 磷酸化增强子(APE)^[1]。澳大利亚的科学家则发现该蛋白具有和 HOOK 蛋白家族相类似的分子结构,并与 HOOK 蛋白家族一样能够与细胞内微管相结合,因而把它称为 HOOK 相关蛋白 1(HkRP1)^[2]。美国学者研究并报道了该蛋白可以与 G 蛋白的 α 亚基相结合,并定位于高尔基体-内质网间的运输小泡上,因此将其命名为运输泡相关 G α 结合蛋白(GIV)^[3]。日本名古屋大学的研究人员发现该蛋白附着在细胞微丝(肌动蛋白)上并具有调控细胞内微丝的功能,因而将其命名为微丝附着梁蛋白(girders of actin filaments, Girdin),成为该蛋白被广泛认可的名称^[4]。有越来越多的证据显示,该蛋白与肿瘤的关系极其密切,其分子结构复杂并具有调控肿瘤侵袭转移、生长等重要功能,作用机制非常重要并在不断发现中。

1 Girdin 蛋白的分子结构

Girdin 蛋白是一个由 1 870 个氨基酸残基构成的相对分子质量为 $(220 \sim 250) \times 10^3$ 的大分子蛋白质,其家族包括 Girdin、Daple 和 HkRP3(蛋白编码是 FLJ00354)。最先由 Anai 等^[1]利用酵母双杂交系统发现其与 PKB(Akt)结合,测出了小鼠体内的一级结构,并发现其由 APE-N1、APE-N3 和 APE-C(也命名为 pJG4-5/APE)3 个片段组成,并存在两个主要结构,即中间的螺旋卷曲结构(Coiled coil 域)和靠近羧基端的 PKB 结合结构。Simpson 等^[2]运用 Clustal X 系统对 Girdin 家族成员进行序列比对,发现该家族存在 2 个保守序列,即与微管结合区有同源性的氨基末端,和与羧基末端毗邻的由 CCDC88A 基因编码的巨大的卷曲螺旋结构,在该结构上存在一个高度保守的由 13 个氨基酸组成的模序,同时,还发现 Girdin 家族还含有多个接头蛋白结合位点及 SH3 域。Enomoto 等^[5]利用 Clustal 法推导出 Girdin 蛋白的分子序列分成 3 个区域,包括促进其结构寡聚化的氨基末端,该部位与 HOOK 蛋白家族的微管结合区域有同源性;中间的卷曲螺旋区域;以及能特异性结合多种配体的羧基末端(carboxyl terminal, CT),该区域含有 Akt、G α 、actin 蛋白的结合位点及细胞膜附着位点,是目前研究发现 Girdin 蛋白的主要功能区域。总之,Girdin 蛋白作为

一个大分子蛋白,其结构的复杂性决定了其功能的多样性及与肿瘤关系的复杂性。

2 Girdin 与肿瘤的关系

2.1 参与调控肿瘤细胞的侵袭和转移 恶性肿瘤的转移过程包括原发瘤的增殖、瘤细胞侵袭毗邻组织或细胞的基底膜和基质、瘤细胞在循环系统中存活并进入靶器官的微血管中增殖或形成微小转移灶以及肿瘤间质内新生血管生成使转移瘤快速生长等。由细胞移行的机制上看,肌动蛋白骨架结构的重组被认为在肿瘤转移过程中发挥关键作用^[6-7]。大量实验证明,Girdin 蛋白作为一个新发现的肌动蛋白骨架结合蛋白参与调控细胞移行。Jun 等^[8]通过回顾性研究,利用免疫组织化学检测了 242 例结肠癌患者标本 Girdin 蛋白表达,其中 66 例有阳性表达,并通过临床单因素或多因素相关性分析发现 Girdin 蛋白的表达与结肠癌的转移和侵袭具有相关性,且在结肠癌肝转移和淋巴结转移期的结肠癌组织中表达阳性率较高。Jiang 等^[9]发现,siRNA 敲除 Girdin 蛋白的乳腺癌细胞系在裸鼠体内肺转移较对照组明显降低,同时,利用胰岛素样生长因子促进 Girdin 表达后,细胞的侵袭性明显增强。Liu 等^[10]通过大量病例研究得到同样结果,在结肠癌肝转移患者中有高达 37.01% 的阳性表达率,其可能对结肠癌肝转移的诊断具有重要价值。可见,Girdin 在肿瘤细胞的侵袭和移行中发挥着重要功能。

2.2 具有调控肿瘤细胞增殖的作用 恶性肿瘤细胞具有生长迅速、生存能力增强、凋亡减弱等显著特点,多项研究表明 Girdin 在恶性肿瘤中具有调控其以上生物学特性的功能。Mao 等^[11]研究发现 Girdin 蛋白参与细胞的有丝分裂,有丝分裂成像技术显示,在有丝分裂细胞的中心小体和中间体有大量 Girdin 蛋白和 pAKT 定位,在将 Girdin 蛋白敲除的 HeLa 细胞种植于裸鼠皮下成瘤实验中发现,其生长速度明显低于未敲除组。Ghosh 等^[12]研究发现 GIV/Girdin 是肿瘤细胞增殖中的微调生长因子,其 C-末端能直接作用于细胞表皮生长因子受体(EGFR)并激活相关细胞因子调控细胞增殖。Ghosh 等^[13]发现了相同的现象,即 GIV/Girdin 与 EGFR 能直接相互作用,并发现鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)在 Girdin 蛋白调控细胞增殖中具有重要作用,在 GEF 完整时,细胞内可 Ga(i)-GIV-EGFR 复合体,EGFR 自体磷酸化增强,通过 PI3-kinase-Akt 和 PLC γ 通路,调控细胞移行;相反,当 GEF 发生突变时,Ga(i)-GIV-EGFR 复合体不能形成,而有丝分裂信号分子

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81060204);云南省中青年学术技术带头人后备人才资助项目(2008PYD18)。 作者简介:孙德云(1987-),硕士,主要从事肝胆胰外科临床及基础研究。 [△] 通讯作者,E-mail:wanglinght@hotmail.com。

(ERK 1/2、Src、STAT5 等)被激活,从而调控细胞有丝分裂和增殖。

2.3 参与肿瘤血管生成、创伤修复和调节自噬等 Girdin 蛋白作为一个新发现的肌动蛋白骨架结合蛋白,其功能除了通过调控肿瘤细胞形变导致其移行外,还参与血管内皮生长因子(VEGF)介导的血管生成作用,Kitamura 等^[14]用人脐静脉的内皮细胞来观察 Girdin 蛋白在血管生成中的作用,发现 Girdin 能促进 VEGF 依赖的内皮细胞迁移,管状结构的形成及出生后微血管的重塑。进一步用免疫组织化学染色发现 Girdin 蛋白在肿瘤内部的血管壁上表达较高。Miyake 等^[15]还发现大鼠颈动脉损伤后动脉壁新内膜中 Girdin 蛋白表达及其磷酸化明显增强,抑制 Girdin 蛋白则动脉平滑肌的增殖及新内膜的形成明显受限。此外,肿瘤血管生成在促进肿瘤转移也发挥着重要作用^[16],只有及时的血管生成来提供充足的血液供应,才能维持肿瘤的迅速生长。以上报道说明 Girdin 蛋白在调控肿瘤血管生成方面也具有重要功能。

Dunkel 等^[17]报道 Girdin 蛋白在创伤修复中具有重要的调控功能,并发现在 Girdin 蛋白的启动子区域具有一个信号转导蛋白和转录激活因子 3(STAT3)结合位点,该位点是激活 Girdin 蛋白参与创伤修复不可缺少的位点。另外,Girdin 蛋白还具有参与调节细胞自噬的功能,Garcia-Marcos 等^[18]利用蛋白质相互作用测定实验,发现 Girdin 蛋白作为一种新的鸟嘌呤核苷酸交换因子,在调节自噬和 Gai3-AGS3 复合体的解离具有关键作用;当细胞处于饥饿状态时,AGS3 直接结合于 LC3 上,并募集 Gai3 形成 Gai3-AGS3 蛋白复合体从而启动自噬;当 Girdin 蛋白被细胞因子激活后,结合 Gai3 蛋白,从而使 Gai3-AGS3 复合体解离,启动抑制自噬信号,自噬受到抑制。总之,Girdin 蛋白在肿瘤中的功能较多,其与肿瘤的关系也较复杂,更多的功能及关系还需进一步探索发现。

3 Girdin 蛋白参与调控肿瘤细胞中的信号通路

3.1 具有调控 PI3K-Akt 信号转导通路的作用 Girdin 蛋白在最先报道时便被发现其与 Akt 具有重要作用关系^[1],Akt 作为一个重要的蛋白激酶,是多条信号通路的关键调节因子,其中 PI3K-Akt 信号通路是其最经典的调节通路。Akt 被磷酸化后其主要功能被激活,再通过磷酸化其下游含 R2x2R2x2x2S/T 序列的底物来调节细胞的多种功能^[19]。Enomoto 等^[5]发现 Girdin 蛋白的羧基末端(CT 域)含有该序列,且 Ser21416 是 Girdin 蛋白被 Akt 磷酸化的位点,Girdin 蛋白的过表达能增加 Akt 在苏氨酸 2 308 和丝氨酸 2 473 位的磷酸化,从而导致 Akt 下游底物如糖原合成酶激酶 23B(GSK23B)和叉头盒转录因子 O1A(FOXO1A)酸化水平升高,有促进肿瘤增殖的作用。另外,Jiang 等^[9]用胰岛素样生长因子(IGF-I)作用于 MDA-MB-231 细胞,通过 Western blot 及免疫荧光检测发现磷酸化 Akt 及磷酸化 Girdin 蛋白均显著升高,而 Girdin 蛋白磷酸化后又可促进 Akt 的磷酸化,细胞的生长及侵袭能力也随之提高。Kitamura 等^[14]在脐静脉内皮细胞中用 LY294002 及 Akt siRNA 抑制 Akt 的表达后,Girdin 蛋白的磷酸化明显受抑制,表明,Girdin 蛋白的磷酸化需要 Akt 的介导。Lin 等^[20]进一步研究证明,Girdin 蛋白是一个酪氨酸磷酸化蛋白,可直接与 PI3K 结合并使其激活,从而激活 PI3K-Akt 通路,促进细胞迁移。Mittal 等^[21]还发现 SHP-1(一种重要的蛋白酪氨酸磷酸酶)能够竞争结合 Girdin 蛋白磷酸化位点,从而具有抑制 PI3K-Akt 通路及其下游底物磷酸化的功能。总之,Girdin 蛋白在 PI3K-Akt 信号通路中具有关键调控作用。

氨酸激酶)能够竞争结合 Girdin 蛋白磷酸化位点,从而具有抑制 PI3K-Akt 通路及其下游底物磷酸化的功能。总之,Girdin 蛋白在 PI3K-Akt 信号通路中具有关键调控作用。

3.2 具有调控 G 蛋白相关信号转导通路的作用 G 蛋白偶联受体家族蛋白是传递细胞信使,调控细胞内外环境的重要通道,因此,其对细胞的增殖与凋亡具有关键调控作用。近期研究发现,Girdin 蛋白具有调控 G 蛋白信号通路的作用。美国科学家 Simpson 等^[2]发现三聚体 G 蛋白的亚型 GAs 和 GAI 是 Girdin 蛋白的直接作用靶点,GA 蛋白与 Girdin 蛋白的结合位点位于 Girdin 蛋白 CT 端末尾的螺旋区域第 83 个氨基酸。另外,Ghosh 等^[22]报道 Girdin 蛋白是 GAI 的配体,在哺乳动物细胞内 Girdin 蛋白能与 GAI 相互作用,GAI 蛋白主要定位于细胞膜的前缘,细胞缺乏该蛋白会导致细胞极性和迁移能力的丧失,表明 GA-Girdin 蛋白复合体是细胞迁移的关键蛋白,而生长因子的刺激可引起 Gai3-Girdin 蛋白复合体的形成,激活 Gai3 蛋白,发挥促进肿瘤细胞增殖及迁移的作用。Garcia-Marcos 等^[18,23]也研究发现,Girdin 蛋白能与 Gai3 蛋白结合,通过 G 蛋白信号通路,启动抑制细胞自噬功能。同时 Gai3 蛋白的构象决定其功能,并通过 GEF 调控细胞的增殖与迁移。可见,Girdin 蛋白与 G 蛋白相关信号通路也具有密切关系,其更多的作用机制仍在探索中。

3.3 与 Wnt 信号通路及 STAT3、DISC1 有相互作用关系 Girdin 蛋白除与 PI3K-Akt 及 G 蛋白关系密切外,还具有调控与癌症相关的 Wnt 信号通路的作用。Enomoto 等^[5]研究发现 Girdin 蛋白家族之一 Daple(也被命名为 HkRP2)是一个散在的伴随调节蛋白,同时也是细胞质中 Wnt 信号通路的重要元件,但其具体的作用机制仍不清楚。Dunkel 等^[17]报道,用免疫组织化学检测乳腺癌中 STAT3 的表达,发现其与 Girdin 蛋白的表达具有重要的相关性,且 Girdin 蛋白的启动子区域具有 STAT3 结合位点。另外,Girdin 蛋白还能与精神分裂症断裂基因(DISC1)相互作用,Enomoto 等^[24]发现肌动蛋白结合蛋白 Girdin 蛋白与 DISC1 相互作用,调控神经轴突的发育,敲除 Girdin 蛋白后能抑制 DISC1/Girdin 蛋白间的相互作用,导致齿状回细胞过度迁移和错误定位,小鼠实验发现齿状回发育缺陷与 Girdin 蛋白表达缺陷有关,充分说明了 Girdin 蛋白与 DISC1 具有密切的作用关系。总之,目前研究报道较多的依然是 Girdin 蛋白与 PI3K-Akt 及 G 蛋白的主要作用机制及关系,与之有密切作用关系的其他信号通路和蛋白还需更深入的研究。

4 展 望

恶性肿瘤一直是危害人类健康的主要因素之一,其诊治一直是世界性难题。据统计,我国近 20 年来恶性肿瘤死亡率呈明显上升趋势,2007 恶性肿瘤死亡率已成为我国城市居民疾病死因的首位^[25]。手术治疗已远远不能满足患者的需求,随着对恶性肿瘤发生和发展分子机制的深入研究,新肿瘤标记物的发现及分子靶向治疗在肿瘤治疗领域的作用越来越突出。Girdin 作为一个新发现的肿瘤相关蛋白,其不仅在肿瘤细胞中高表达,其还具有调控肿瘤细胞增殖、迁移、自噬及肿瘤组织血管生成等重要作用。更关键的是,它在 PI3K-Akt 信号通路和 G 蛋白信号转导通路中都发挥着重要的分子调控作用,并与多种蛋白具有相互作用关系,有望成为一个新的肿瘤标记物或

(和)分子靶向治疗的作用位点。但其在调控肿瘤中是否还参与其他关键信号通路及其作用机制,还需要更深入的研究。总之,Girdin 作为一个新的肿瘤相关蛋白很可能成为肿瘤诊断和治疗研究的热点,并具有非常重要的研究价值。

参考文献:

- [1] Anai M,Shojima N,Katagiri H, et al. A novel protein kinase B(PKB)/AKT-binding protein enhances PKB kinase activity and regulates DNA synthesis [J]. *Biol Chem*, 2005,280(18):18525-18535.
- [2] Simpson F,Martin S,Evans TM, et al. A novel hook-related protein family and the characterization of hook-related protein 1[J]. *Traffic*,2005,6(6):442-458.
- [3] Le-Niculescu H,Niesman I,Fischer T, et al. Identification and characterization of GIV, a novel Galpha i/s-interacting protein found on COPI, endoplasmic reticulum-Golgi transport vesicles[J]. *Biol Chem*, 2005, 280 (23) : 22012-22020.
- [4] Enomoto A,Murakami H,Asai N, et al. Akt/PKB regulates actin organization and cell motility via Girdin/APE [J]. *Dev Cell*,2005,9(3):389-402.
- [5] Enomoto A, Ping J, Takahashi M. Girdin, a novel actin-binding protein, and its family of proteins possess versatile functions in the Akt and Wnt signaling pathways[J]. *Ann N Y Acad Sci*,2006,1086:169-184.
- [6] Yamazaki D,Kurusu S,Takenawa T. Regulation of Cancer cell motility through actin reorganization[J]. *Cancer Sci*, 2005,96(7):379-386.
- [7] Jiang P, Enomoto A, Takahashi M. Cell biology of the movement of breast Cancer cells; intracellular signalling and the actin cytoskeleton[J]. *Cancer Lett*,2009,284(2):122-130.
- [8] Jun BY, Kim SW, Jung CK, et al. Expression of girdin in human colorectal Cancer and its association with tumor progression[J]. *Dis Colon Rectum*,2013,56(1):51-57.
- [9] Jiang P, Enomoto A, Jijiwa M, et al. An actin-binding protein Girdin regulates the motility of breast Cancer cells [J]. *Cancer Res*,2008,68(5):1310-1318.
- [10] Liu C, Xue H, Lu Y, et al. Stem cell gene Girdin; a potential early liver metastasis predictor of colorectal Cancer [J]. *Mol Biol Rep*,2012,39(9):8717-8722.
- [11] Mao JZ, Jiang P, Cui SP, et al. Girdin locates in centrosome and midbody and plays an important role in cell division[J]. *Cancer Sci*,2012,103(10):1780-1787.
- [12] Ghosh P, Garcia-Marcos M, Farquhar MG. GIV/girdin is a rheostat that fine-tunes growth factor signals during tumor progression[J]. *Cell Adh Migr*, 2011, 5 (3) : 237-248.
- [13] Ghosh P, Beas AO, Bornheimer SJ, et al. A G{alpha}i-GIV molecular complex binds epidermal growth factor receptor and determines whether cells migrate or proliferate [J]. *Mol Biol Cell*,2010,21(13):2338-2354.
- [14] Kitamura T, Asai N, Enomoto A, et al. Regulation of VEGF-mediated angiogenesis by the Akt/PKB substrate Girdin[J]. *Nat Cell Biol*,2008,10(3):329-337.
- [15] Miyake H, Maeda K, Asai N, et al. The actin-binding protein Girdin and its Akt-mediated phosphorylation regulate neointima formation after vascular injury[J]. *Circ Res*, 2011,108(10):1170-1179.
- [16] Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in Cancer and other diseases[J]. *Nature*,2000,407(6801):249-257.
- [17] Dunkel Y, Ong A, Notani D, et al. STAT3 protein up-regulates G α -interacting vesicle-associated protein (GIV)/Girdin expression, and GIV enhances STAT3 activation in a positive feedback loop during wound healing and tumor invasion/metastasis [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287 (50) : 41667-41683.
- [18] Garcia-Marcos M, Ear J, Farquhar MG, et al. A GDI(AGS3) and a GEF(GIV) regulate autophagy by balancing G protein activity and growth factor signals[J]. *Mol Biol Cell*, 2011,22(5):673-686.
- [19] Alessi DR, Caudwell FB, Andjelkovic M, et al. Molecular basis for the substrate specificity of protein kinase B; comparison with MAPKAP kinase-1 and p70 S6 kinase [J]. *FEBS Lett*,1996,399(3):333-338.
- [20] Lin C, Ear J, Pavlova Y, et al. Tyrosine phosphorylation of the G α -interacting protein GIV promotes activation of phosphoinositide 3-kinase during cell migration [J]. *Sci Signal*,2011,4(192):64.
- [21] Mittal Y, Pavlova Y, Garcia-Marcos M, et al. Src homology domain 2-containing protein-tyrosine phosphatase-1 (SHP-1) binds and dephosphorylates G(alpha)-interacting, vesicle-associated protein(GIV)/Girdin and attenuates the GIV-phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt signaling pathway[J]. *J Biol Chem*,2011,286(37):32404-32415.
- [22] Ghosh P, Garcia-Marcos M, Bornheimer SJ, et al. Activation of galphai3 triggers cell migration via regulation of GIV[J]. *J Cell Biol*,2008,182(2):381-393.
- [23] Garcia-Marcos M, Ghosh P, Ear J, et al. A structural determinant that renders G alpha(i) sensitive to activation by GIV/girdin is required to promote cell migration[J]. *J Biol Chem*,2010,285(17):12765-12777.
- [24] Enomoto A, Asai N, Namba T, et al. Roles of disrupted-in-schizophrenia 1-interacting protein girdin in postnatal development of the dentate gyrus [J]. *Neuron*, 2009, 63 (6) :774-787.
- [25] 张伟东, 苗树军. 我国恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析 [J]. *中国健康教育*,2009,25(4):246-248.