

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.23.045

SEPT7 在神经胶质瘤起抑制作用的研究进展

李毅力 综述,李映良[△] 审校

(重庆医科大学附属儿童医院神经外科 400014)

关键词:SEPT7;神经胶质瘤;抑癌基因;骨架蛋白

中图分类号:R739.44

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)23-3093-03

胶质瘤是发生于神经外胚层的肿瘤。神经胶质瘤占原发性中枢神经系统肿瘤约 40% 左右,是恶性肿瘤呈浸润性生长。目前,国内外学者一致认为神经胶质细胞的发生、发展受多基因的调控,是原癌基因的启动或是抑癌基因的失活或者缺失共同复杂影响的结果。近年来,人隔蛋白 7(SEPT7)在神经胶质瘤的作用日渐密切地被关注,并认为 SEPT7 在神经胶质瘤的发生与发展中通过与其他多种基因的相互调控起着抑制肿瘤发生、发展的重要作用。

1 Septins 家族

Septins 家族成员于 1972 年被 Hartwell^[1] 率先发现,是在酿酒酵母菌芽孢有丝分裂的关键时刻发现的。随后大量的文献证明在真核生物中从真菌到哺乳动物都有被发现^[2-3]。Septins 被认为是基因中的部分序列相似而功能不尽相同的基因家族,它们是同一个原始基因的演变,共享典型的 G-域、N-端和 C-端延伸领域^[4]。但由于这些基因外显子的拼接方式的不同而出现不同的亚型,分别表达出功能各异的功能蛋白,可以统称为隔蛋白^[5],构成家族中保守的鸟嘌呤核苷酸结合蛋白^[1,2,6],具有同源和(或异源)低聚物的复合物和细丝。三维透视 Septins 家族的结构表明,它们共享一个由 6 β -链和 5 个 α -螺旋的规范 G 结构域^[7]。目前,认为这些高度有序的 Septins 结构是具有支架功能和(或)扩散壁垒的空间位标,在细胞极性和细胞分裂周期中起着关键的作用^[2]。

2002 年 Macara 等学者提出将隔蛋白统一命名为 SEPT1~SEPT10。到目前为止,已经知道人类 Septins 基因家族中有 13 个,分别是 SEPT1~SEPT12 和 SEPT14,而 SEPT13 被认为是与 SEPT7 有关的假基因^[2,5]。在 Septins 家族中,根据 C-端编码区序列是否相似被分成 4 组,第 IV 组中包含 SEPT13、SEPT7,因 SEPT13 被认为是 SEPT7 的假基因,所以,该组通常认为以 SEPT7 独立为组^[5,8]。

在哺乳动物体内 Septins 经常以异源多聚体的形式存在,形成具有生物学功能的复合物。Tsang 等^[9] 认为 Septins 在神经系统中处于高表达状态,在哺乳动物海马神经元中常以八聚体复合物的形式存在。研究还发现 Septins 的表达具有组织特异性,在不同的组织有不同的 Septins 复合物形式,如较为有特点的 SEPT7/9/11 复合物在鼠胚胎纤维母细胞中被合成^[10],SEPT3/5/7 复合物在中枢神经细胞中独立存在^[11]。SEPT5/7/11 复合物在小鼠大脑神经细胞中存在^[12]。不难看出,SEPT7 在 Septins 家族中与其他 Septins 成员形成不同的复合物中是一个不可替代的成分。研究还发现 SEPT7 在体内能够征募 SEPT2 和 SEPT6 形成纤维状结构的复合物,如 SEPT2/6/7 复合物以六聚体为最小单位的形式存在,即 SEPT7-SEPT6-SEPT2-SEPT2-SEPT6-SEPT7。其三维结构在

生物体外也被成功解析,且研究还发现 SEPT7 在 SEPT2/6/7 复合物中占据着相对主导地位^[13],在脑组织中有丰富的表达。

2 SEPT7 的物理、生化结构

SEPT7 基因位于人染色体 7p14.4~14.1,属于蛋白编码基因,含有 1 254 个核苷酸的开放阅读框,编码 418 个氨基酸,长约 106~120 bp,有 7 个转录子,9 个假基因,已经确定了几个相关的假基因分别在 5、7、9、10、11、14、17、19 号染色体上,都有着不同的编码产物。Kim 等^[14] 通过免疫组织化学技术检测胶质瘤细胞系发现:SEPT7 仅在远离核区的细胞质有发现并与所分布的肌动蛋白相互排斥,且被强染色。SEPT7 是 GTP 结合蛋白,分子量约 30~65 kDa,属于超级磷酸盐结合环(P-环)NTPases^[3],在人类 13 个 Septin 型中是独特的,因为它占据其结构六聚体的两端构建成块并组装成非极性细丝。

Septin7 是在 GDP 结合的晶体形式中获得,Vagin 等^[15] 通过自动分子置换程序(Molrep)(1997)以 Sept2 为参考分析了 SEPT7 的结构。2004 年 Zent 等也通过 SEPT7 与 SEPT2 进行了结构和生化对比研究,它是一个不对称的二聚体,不对称的晶体结构包含 2 个 SEPT7 分子,电子密度标记着蛋白中的 GDP 和几个新的结构域,通过核苷酸结合位点形成彼此面对的 G 界面,大量的相互作用有利于 SEPT7 的 G 界面的形成^[15]。SEPT7 结构在 3.3 埃的解析液中溶解,尽管 N-氨基端断面的 α_0 -螺旋和 C-羧基端的卷曲结构域被认为能破坏 NC 界面,但 SEPT7 在晶体中形成长丝,且认为该结晶有利于一些细丝的形成,这与在溶液中的特征形成鲜明的对比,是因为蛋白质作为聚合物在所有的缓冲测试液中不会沉淀。每个分子中的 NC 界面在晶体中的交互作用包含 3 个残留物,其中 Arg-131 位于 α_2 螺旋和 β_1 链之间的环上,分别和位于其他亚型 α_2 、 β_6 螺旋中的谷氨酸-126 和谷氨酸-288 形成电荷之间的相互作用。SEPT7 的三维结构模型是 2004 年 Emsley 和 Cowtan 通过 COOT(分子模型构建工具)构建(图 1)。

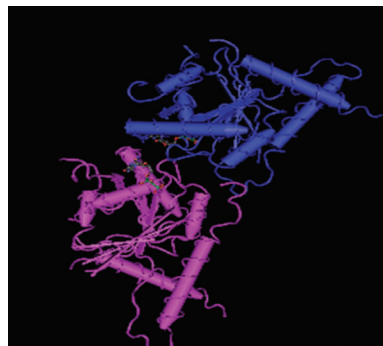


图 1 SEPT7 晶体的三维结构

3 SEPT7 的蛋白功能

哺乳动物隔蛋白几乎表达于所有正常组织细胞中,在细胞皮层、收缩环、有丝分裂的中间体、肌动蛋白的应力纤维中被发现^[6]。在细胞中起着非常重要的角色,调节一系列重要的细胞过程,如:细胞质的分裂、纤毛的形成、神经的发生^[2-3],作为支架蛋白的招募和(或)扩散的障碍划分离散细胞^[2],被视为细胞骨架蛋白。SEPT7 在神经细胞中低表达导致树突棘形态的缺陷^[12,16],在细胞间期形成扁平的形态。

4 Septins 与人类疾病

随着 Septin 蛋白的生理功能与生化特性得到解析,近年发现 Septins 与多种疾病的发生有密切关系。如 SEPT3、SEPT5 等在脑组织中有相对较高的表达,SEPT2 等参与神经递质分泌,SEPT1、SEPT2、SEPT4 等在细胞组织中与纤维的形成有关。导致在神经系统中参与阿尔茨海默症、帕金森病等疾病的发生与发展^[3]。Septin4 也可能与男性不孕症有关,李玉山等^[17]通过研究证实弱精子症患者精子中的表达水平显著降低,推测是可能导致精子活力低下而不孕的原因。Septin7 在肾小球中与肾病蛋白相互作用也可能参与了足细胞对葡萄糖转运的调控^[18]。

5 Septins 家族与肿瘤

学者们对 Septin 蛋白与肿瘤关系的研究也日渐深入,人类 Septins 家族中的某些成员和其潜在的亚基因与肿瘤的发生和发展有着密切的联系,对其功能的研究正逐渐成为恶性肿瘤发生机制研究的新热点。

在 Septin 家族中,已通过大量的试验研究分析结果表明,SEPT9 在乳腺、中枢神经系统、子宫内膜、肾脏、肝、肺、淋巴、食管、卵巢、胰腺、软组织、皮肤、甲状腺等来源的肿瘤中高表达^[19],SEPT9 被作为早期直肠癌的生物标记。SEPT2 表达见于全部脑肿瘤,在 G2/M 期最高,星形胶质瘤细胞转染 SEPT2 反义链或显性负调控突变体后,细胞质分裂进程受阻,出现多核巨细胞。而 SEPT3 的表达则限于髓母细胞瘤等神经元来源的肿瘤^[20]。SEPT4 常见于结直肠癌、泌尿系肿瘤和恶性黑色素瘤等,表达有相对组织特异性。结肠癌细胞转染 Septin4 序列特异性核酶后,表现为 G2 期阻滞、细胞生长抑制和体外成瘤能力显著下降^[21]。SEPT4 的假基因(ARTS)在大多数儿童急性淋巴瘤中是缺失的。杂合性缺失 SEPT11 的肝细胞癌患者的生存率比不显示杂合性缺失 SEPT11 的患者显著要低^[22]。

6 SEPT7 与神经胶质瘤

SEPT7 的表达与人类神经胶质瘤的关系也逐渐被学者关注。2000 年 Huang 等曾提出 SEPT7 在恶性星形胶质瘤中的表达较正常组织低 50% 以上。国内学者也曾应用微阵列进行胶质瘤基因表达谱的研究,发现 SEPT7 基因在胶质瘤中表达与正常脑组织中相比较有明显下调^[23]。贾志凡等^[24]也提出 SEPT7 与脑胶质瘤的发生有着密切关系,同时进行了一系列的相关研究:构建了 SEPT7 的真核表达载体,针对人胶质瘤细胞进行了研究,通过转染 pCDNA3/SEPT7 的 U251 细胞系进行实验,采用免疫荧光染色方法和 RT-PCR 进行 SEPT7 的表达检测,结果显示转染重组质粒组的 SEPT7 表达量明显高于对照组。同时,还观察了转染前、后细胞的不同细胞周期时相的分布,转染后的细胞在 G0/G1 期明显阻滞,提示 SEPT7 可以延缓肿瘤细胞的细胞周期进展^[25]。2007 年在体外人脑胶质瘤细胞系 TJ950 通过 pcDNA3 载体转染 SEPT7 后可使负向调控因子 p16、p21 表达增高,减缓细胞周期的进展,抑制细胞侵袭能力,并诱发细胞凋亡^[26]。2008 年通过 miRNA 微阵列

技术研究提示 miRNA 是胶质瘤的重要特征和潜在治疗靶点,并初步验证了 miR-21(癌基因)调控 SEPT7 的表达^[27]。2008 年天津医科大学与南开大学合作共同建立的 HuMiTar 数学模型^[28]预测 SEPT7 为 miR-19a 及 miR-19b 的潜在靶基因,并通过荧光素酶谱实验证实了 SEPT7 为 miR-19a 及 miR-19b 的直接靶点,可能敲低胶质瘤细胞内的 miR-19a/19b 而提高 SEPT7 的表达从而产生抑癌作用,因此,认为 Septin7 的过度表达抑制胶质瘤细胞生长。2012 年 Ji 等^[29]进一步确定 SEPT7 是受 miR-30a-5p 和 miR-30a 调节的实验中得出:SEPT7 在人脑胶质瘤是低表达的,是参与 miR-30a-5p 在胶质瘤发生过程中起着重要的作用。

在动物胶质瘤模型实验中 SEPT7 的表达也同样有类似的结论。贾志凡等^[30]通过 SEPT7 逆转裸鼠移植实验表明 SEPT7 具有诱导细胞分化和抑制肿瘤的效果,认为因脑胶质瘤的发生同时与 MMP2、MMP9、GFAP、p16、p21 等诸多相关基因及调控因子有密切联系,通过下调 MMP2、MMP9 的表达,降低了肿瘤的侵袭能力,对胶质瘤的恶性表型具有逆转作用。Bello 等^[31]多次试验验证了整合素 $\alpha v \beta 3$ 可以促进胶质瘤侵袭生长。2009 年徐嵩等^[32]在裸鼠体内试验通过应用 SEPT7 重组腺病毒治疗 U251 胶质母细胞瘤后表明 SEPT7 重组腺病毒向细胞内投递,可在细胞内获得较高表达,稳定发挥作用,通过组织原位检测整合素 $\alpha v \beta 3$ 表达下降,活性被抑制,从而抑制肿瘤的生长,降低肿瘤的侵袭能力。2010 年 Jia 等^[28]使用较大数量的人类神经胶质瘤组织样本通过 RT-PCR 和 Western blot 实验数据分析证明,在高级别的神经胶质瘤中 SEPT7 的 RNA 和蛋白水平的表达普遍下调甚至缺失。

Tada 等^[33]研究报道 SEPT7 在神经元树突突起的基部有表达,较多表达会增加树突的分支;相反,敲除 SEPT7 会导致树突分支的减少和不成熟突触比例的增加;在神经细胞脊椎形态和树突发育的成熟过程中,SEPT7 是至关重要的。这些研究表明,在神经系统的发展中也被认为是形成神经胶质瘤的重要理论依据。同时,在体内、外的实验中观察到 SEPT7 的过表达在细胞分裂 G0/G1 中抑制细胞增殖和周期的进展^[28]。2011 年 Tsang 等^[9]和 Connolly 等^[34]针对 Septin7 与神经肿瘤的发生、发展也进行了总结,基因表达的改变导致神经胶质瘤发生的主要机制是通过 Septin7 的下调或缺失,从而导致多倍体或异倍体的细胞分裂。因此,目前一致认为胶质瘤与 SEPT7 在蛋白和基因水平上的表达下调有关;SEPT7 的表达与胶质瘤的级别呈负相关。

7 结 语

SEPT7 是隔蛋白大家族成员之一,因其在细胞中特殊的作用,目前对他的关注日渐增多。SEPT7 的表达在胶质瘤中通过与其他基因、生物调节因子的相互影响,从而调控细胞周期,抑制肿瘤的生长、增殖和侵袭,并诱导肿瘤细胞凋亡,且对胶质瘤的恶性表型具有逆转作用^[28]。人类胶质瘤因整体治疗效果不理想,期待通过转染 SEPT7 的基因治疗能改善胶质瘤的预后。但目前对胶质瘤生物学功能的具体影响机制仍不是十分清楚。仍需进行更多的相关研究,能更好地了解 SEPT7 在细胞中的作用机制;了解 SEPT7 与其他传导通路和分子机制之间的相互作用;同时也认识 Septin 现有的功能以及发现其新的生物学功能;特别是在神经胶质瘤中认为 SEPT7 基因表达的调控有潜在的研究价值。相信在不久的将来,能把基因治疗与放疗、化疗、手术、中医中药等传统治疗方法相结合,将为神经胶质瘤的治疗起到积极推动的作用。

参考文献:

- [1] Hartwell LH. Genetic control of the cell division cycle in yeast. IV. Genes controlling bud emergence and cytokinesis[J]. *Exp Cell Res*, 1971, 69(2): 265-276.
- [2] Sandrock K, Bartsch I, Blaser S, et al. Characterization of human septin interactions[J]. *Biol Chem*, 2011, 392(8-9): 751-761.
- [3] Mostowy S, Cossart P. Septins: the fourth component of the cytoskeleton[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(3): 183-194.
- [4] Sirajuddin M, Farkasovsky M, Hauer F, et al. Structural insight into filament formation by mammalian septins[J]. *Nature*, 2007, 449(7160): 311-315.
- [5] Russell SE, Hall PA. Septin genomics: a road less travelled[J]. *Biol Chem*, 2011, 392(8-9): 763-767.
- [6] Nishihama R, Onishi M, Pringle JR. New insights into the phylogenetic distribution and evolutionary origins of the septins[J]. *Biol Chem*, 2011, 392(8-9): 681-687.
- [7] Sirajuddin M, Farkasovsky M, Zent E, et al. GTP-induced conformational changes in septins and implications for function[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(39): 16592-16597.
- [8] Nakahira M, Macedo JN, Seraphim TV, et al. A draft of the human septin interactome [J]. *PLoS One*, 2010, 5(11): e13799.
- [9] Tsang CW, Estey MP, DiCiccio JE. Characterization of presynaptic septin complexes in mammalian hippocampal neurons[J]. *Biol Chem*, 2011, 392(8-9): 739-749.
- [10] Nagata K, Asano T, Nozawa Y, et al. Bio-chemical and cell biological analyses of a mammalian septin complex [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(53): 55895-55904.
- [11] Fujishima K, Kiyonari H, Kurisu J, et al. Targeted disruption of Sept3, a heteromeric assembly partner of Sept5 and Sept7 in axons, has no effect on developing CNS neurons[J]. *J Neurochem*, 2007, 102(1): 77-92.
- [12] Xie Y, Vessey JP, Konecna A, et al. The GTP-binding protein Septin7 is critical for dendrite branching and dendritic-spine morphology[J]. *Curr Biol*, 2007, 17(20): 1746-1751.
- [13] 朱梅, 姚雪彪. 骨架蛋白质 SEPT7 在有丝分裂期的功能解析与生化特性研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2008.
- [14] Kim DS, Hubbard SL, Peraud A, et al. Analysis of mammalian septin expression in human malignant brain tumors[J]. *Neoplasia*, 2004, 6(2): 168-178.
- [15] Vagin A, Teplyakov A. Molecular replacement with MOL-REP[J]. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2010, 66(Pt1): 22-25.
- [16] Weirich CS, Erzberger JP, Barral Y. The septin family of GTPases: architecture and dynamics [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(6): 478-489.
- [17] 李玉山, 冯晓霞, 吉晓菲, 等. SEPT4 蛋白在特发性弱精子症患者精子中的表达[J]. *中华男科学杂志*, 2011, 17(8): 699-702.
- [18] Wasik AA, Polianskyte-Prause Z, Dong MQ, et al. Septin7 forms a complex with CD2AP and nephrin and regulates glucose transporter trafficking[J]. *Mol Biol Cell*, 2012, 23(17): 3370-3379.
- [19] Scott M, McCluggage WG, Hillan KJ, et al. Altered patterns of transcription of the septin gene, SEPT9, in ovarian tumorigenesis[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(5): 1325-1329.
- [20] Kim DS, Hubbard SL, Peraud A, et al. Analysis of mammalian septin expression in human malignant brain tumors[J]. *Neoplasia*, 2004, 6(2): 168-178.
- [21] Tanaka M, Kijima H, Itoh J. Impaired expression of a human septin family gene Bradeion inhibits the growth and tumorigenesis of colorectal cancer in vitro and in vivo[J]. *Cancer Gene Ther*, 2002, 9(6): 483-488.
- [22] Huang GL, Li BK, Zhang MY. LOH analysis of genes around D4S2964 identifies ARD1B as a prognostic predictor of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(16): 2046-2054.
- [23] 江荣才, 浦佩玉. 基因芯片及其在肿瘤研究中的应用[J]. *中国肿瘤临床*, 2002, 29(2): 146-149.
- [24] 贾志凡, 浦佩玉, 康春生, 等. 人隔蛋白 7 的真核表达载体的构建及表达[J]. *医学分子生物学杂志*, 2007, 4(5): 401-405.
- [25] 贾志凡, 浦佩玉, 康春生, 等. SEPT7 对胶质瘤细胞株 TJ905 生物学特性的影响[J]. *中华外科杂志*, 2007, 45(20): 1420-1423.
- [26] 贾志凡, 浦佩玉, 康春生, 等. 隔蛋白 7 对胶质瘤细胞株 U251 细胞周期的影响[J]. *中华神经外科杂志*, 2008, 24(6): 471-473.
- [27] Ruan J, Chen H, Kurgan L, et al. HuMiTar: a sequence-based method for prediction of human micro RNA targets [J]. *Algorithms Mol Biol*, 2008, 3(1): 16.
- [28] Jia ZF, Huang Q, Kang CS, et al. Over expression of septin 7 suppresses glioma cell growth[J]. *J Neurooncol*, 2010, 98(3): 329-340.
- [29] Ji ZF, Wang K, Wang GX, et al. MiR-30a-5p antisense oligonucleotide suppresses glioma cell growth by targeting SEPT7[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e55008.
- [30] 贾志凡, 浦佩玉, 康春生, 等. 隔蛋白 7 逆转裸鼠移植胶质瘤的恶性表型[J]. *中华肿瘤杂志*, 2008, 30(1): 3-7.
- [31] Bello L, Lucini V, Giussani C, et al. IS201, a specific alpha vbeta3 integrin inhibitor, reduces glioma growth in vivo [J]. *Neurosurgery*, 2003, 52(1): 177-185.
- [32] 徐嵩, 贾志凡, 黄强, 等. SEPT7 基因抑制 U251 MG 裸鼠皮下荷瘤侵袭的体内实验研究[J]. *中华神经外科杂志*, 2009, 25(12): 1142-1145.
- [33] Tada T, Simonetta A, Batterton M. Role of Septin cytoskeleton in spine morphogenesis and dendrite development in neurons[J]. *Curr Biol*, 2007, 17(20): 1752-1758.
- [34] Connolly D, Abdesselam I, Verdier-Pinard P, et al. Septin roles in tumorigenesis [J]. *Biol Chem*, 2011, 392(8-9): 725-738.