

# ITSN 蛋白在肿瘤中的功能研究进展

张金曼 综述,马勇杰,谷峰 审校

(天津医科大学肿瘤医院乳腺病理科,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市“肿瘤防治”重点实验室,天津市恶性肿瘤临床医学研究中心,天津 300060)

**摘要** 交叉蛋白 Intersectin(ITSN)是一种具有多个结构域的细胞衔接蛋白,在细胞中能够参与多种信号通路,发挥不同的生物学功能。ITSN 除了能在细胞的胞吞和胞吐、细胞肌动蛋白骨架重排、细胞内信号转导以及细胞的生存等方面起到调控的作用以外,还与许多人类疾病密切相关,尤其在肿瘤的发生发展以及迁移、侵袭过程中发挥着重要的作用。

**关键词** ITSN;肿瘤;胞吞;胞吐

**中图分类号** R730

**文献标志码** A

ITSN 蛋白家族是参与调节多种细胞信号通路的多结构域蛋白家族<sup>[1-2]</sup>,初次发现于非洲爪蟾的卵母细胞中,其表达较为广泛,在多种生物中均有表达,且在进化上高度保守。近年来,随着对 ITSN 研究的深入,许多研究发现 ITSN 具有诸多重要的生物学功能,除了可以作为支架/接头蛋白参与到细胞的内吞和外排过程<sup>[2]</sup>,还能参与多种信号通路的调控,包括激酶调节和 Ras 活化等<sup>[2]</sup>;另外,在神经退行性疾病如唐氏综合征和阿尔茨海默病中,其表达也会发生变化<sup>[3]</sup>;重要的是,ITSN 也参与了几种人类癌症的发生和发展,并在此过程中调控癌细胞的存活和迁移<sup>[2,4]</sup>。本文对 ITSN 的结构、功能,尤其是肿瘤方面的作用进行了综述。

## 1 ITSN 简介

**1.1 ITSN 的分类和结构** 在人类、小鼠等高等生物中,ITSN 蛋白含有两种同源蛋白,分别为 ITSN1 和 ITSN2<sup>[5]</sup>,这两个家族成员在哺乳动物组织中广泛表达,并分别有两个主要的亚型,短亚型 ITSN-S 和长亚型 ITSN-L,且这两种亚型均产生于选择性剪接<sup>[6-7]</sup>。

由于选择性剪切的作用,这两种亚型的结构域也有所不同:短剪切形式 ITSN-S 由 2 个 Eps15 同源结构域(EH1、EH2)、一个 CC 螺旋结构域(CC)以及 5 个 Src 同源结构域 3(SH3)组成;长剪接变异体 ITSN-L 除具有以上短亚型所含有的几个功能域外,还包含另外 3 个结构域,分别为 Dbl 同源结构域(DH)、PH 结构域以及 C2 结构域<sup>[7]</sup>。

**1.2 ITSN 的分布** 与 ITSN-L 亚型相比,ITSN-S

亚型在生物中的表达较为普遍,其广泛存在于从线虫到哺乳动物的多细胞生物中,在许多组织中均有表达,并通常定位于细胞质和核周区域;ITSN1-S 和 ITSN2-S 也存在于网格蛋白有被小泡,其中 ITSN1-S 也与细胞表面的穴样内陷结合,因此,能够在细胞内参与细胞的胞吞过程。

而 ITSN1-L 通常在脊椎动物中表达,因其具有独特的神经元特异性,所以它能调节神经元树突棘的发育,在神经系统发育过程中发挥重要的作用。ITSN2-L 则广泛地表达于内皮细胞的胞浆中,并且与泡状结构的形成有关。

## 2 ITSN 各结构域的生物学功能

ITSN 包含多个功能域,其可以通过所含有的不同结构域与多种不同蛋白质配体相结合。其中,EH 结构域可以结合含有 Asp-Pro-Phe(NPF)基序的蛋白质,其中包括 Epsin、Dab2、Numb 和 Stonin2 等胞吞相关蛋白成分<sup>[8]</sup>;CC 结构域能够促进 ITSN 的同二聚体化和异二聚体化<sup>[9]</sup>,并促进 ITSN 与内吞和胞吐相关蛋白质的相互作用;SH3 结构域则通过结合多种不同的蛋白质,参与多种过程,包括:细胞内吞(如 dynamin 和 synaptojanin),肌动蛋白重排(如 N-WASP),细胞存活(如 PI3KC2β)<sup>[10]</sup>以及细胞信号传导(如 SOS、Cbl 和 RALT)<sup>[11-12]</sup>等。ITSN-L 的 DH-PH 结构域能够特异性的激活 Rho GTP 酶超家族成员 Cdc42,但不激活其他 Rho 家族成员;而 C2 结构域则参与 GTP 酶的调控以及胞膜转运等过程<sup>[13]</sup>。

## 3 ITSN 在肿瘤中的作用

ITSN 的表达与人类肿瘤的发生发展密切相关。高表达 ITSN1-S 或 ITSN1-L 能够促进成纤维细胞的致癌转化。ITSN1 促进了包括神经母细胞瘤和胶质母细胞瘤在内的几种人类癌症的致瘤特性<sup>[14-15]</sup>。

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81572851)

作者简介 张金曼(1993-),女,硕士在读,研究方向:生物化学与分子生物学;通信作者:谷峰,E-mail:fenggumayo@163.com。

此外,对 ONCOMINE™ 数据库的分析也表明,ITSN1 在包括胰腺癌、脂肪肉瘤和 Wilm's 肿瘤在内的几种人类癌症中均表现出过表达,这些结果都提示着 ITSN1 在人类癌症中具有广泛的作用。

### 3.1 ITSN1 在肿瘤中的作用

**3.1.1 ITSN1 在神经母细胞瘤中的作用** 神经母细胞瘤(neuroblastoma, NBL)是儿童最常见的颅外实体肿瘤之一,常发于 5 岁以下儿童。NBL 在生物学和临床上具有高度的异质性<sup>[16]</sup>。对 1 000 多个神经母细胞瘤的特征进行分析显示,MYCN 基因与 NBL 的恶性分期、进展速度具有高度的相关性,并且,大约有 20%~25% 的 NBL 患者存在 MYCN 原癌基因的扩增,但其在 NBL 残余肿瘤中的分子作用机制仍不清楚<sup>[17]</sup>。最近,ITSN1 被检测到在 MYCN 扩增和非扩增的人 NBL 肿瘤和细胞系中都有表达<sup>[15]</sup>。更重要的是,沉默 ITSN1 的表达降低了体外肿瘤的锚定不依赖性生长能力以及无胸腺裸鼠中肿瘤生长的速度<sup>[15]</sup>。ITSN1 的下游靶点 PI3KC2 $\beta$  也参与了 NBL 肿瘤的发生,PI3KC2 $\beta$  的过表达可以挽救 ITSN1 沉默后细胞的锚定不依赖性生长能力,这也提示了 ITSN1 可通过其效应物 PI3KC2 $\beta$  在人类癌症中发挥作用<sup>[18]</sup>。

**3.1.2 ITSN1 在胶质细胞瘤中的作用** 胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)是最具侵袭性的原发性脑肿瘤,占据恶性脑肿瘤的 80%,并且是脑胶质瘤中最大的并且最恶性的亚群。GBM 侵袭性强,有侵袭周围健康脑组织的倾向,并且预后差。虽然目前手术、放疗和化疗等方法均可对 GBM 进行治疗,然而,患者的平均存活时间仍然不超过 15 个月。因此,GBM 仍然是一种无法治愈的疾病<sup>[14]</sup>。因此,对 GBM 肿瘤发生相关的关键信号通路的研究是开发 GBM 治疗方案的重要一步。有研究表明,ITSN1-S 通过调节多种关键蛋白对胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭起到至关重要的作用:沉默 ITSN1-S 可抑制人脑胶质瘤细胞的迁移和侵袭,导致基质金属蛋白酶表达水平的下降<sup>[19]</sup>,此实验结果与前述结论一致,ITSN1-S 不仅参与人胶质细胞瘤的迁移和侵袭<sup>[19]</sup>,还是恶性胶质瘤增殖的关键<sup>[14]</sup>。此外,ITSN1-S 的表达与胶质瘤的组织学分级和不良的预后呈正相关<sup>[14]</sup>。目前,ITSN1 已成为多形性胶质母细胞瘤的潜在靶点。另外,有研究显示:在啮齿动物成纤维细胞中,ITSN1-L 的过表达已被证明具有促进转化活性的作用。

**3.1.3 ITSN1 在肺癌中的作用** 肺癌作为对人类生命威胁最严重的肿瘤之一,因其发生发展的机制尚不明确,因此很难找到成功的治疗方法。适配蛋白在癌症中起着至关重要的作用,因为适配蛋白可以

将细胞表面受体与特定的细胞内通路连接起来。ITSN-1S 作为一种重要的多结构域适配蛋白,与多种肺部疾病的病理生理有关。

ITSN-1S 蛋白在正常肺组织中普遍存在,但在人肺癌细胞和肺癌组织中其蛋白表达水平则明显下调。与此结论一致的是:人类蛋白质图谱也显示肺癌和其他一些实体器官恶性肿瘤中的 ITSN-1S 水平明显降低。Jeganathan 等研究结果表明:ITSN-1S 蛋白缺失在肺癌细胞增殖、非锚定生长、迁移和侵袭等所有关键阶段起着重要的作用。

恢复 ITSN-1S 蛋白水平可降低肺癌细胞增殖和克隆形成的潜能,并恢复细胞骨架的变化,有利于减少细胞的迁移和侵袭。体内研究表明:注射 ITSN-1S 过表达的 A549 细胞的免疫缺陷小鼠的转移瘤更少,且体积更小。其研究还表明,降表达 ITSN-1S 降低了 Eps8 与 Cbl 之间的相互作用,增强了 Eps8-mSos1 复合物的组装,导致 Eps8 的上调和 Rac1 的激活;而恢复 ITSN-1S 蛋白水平会增加 Cbl E3 泛素连接酶与 Eps8 之间的相互作用,从而促进 Eps8 癌蛋白的泛素化。另外,ITSN-1S 具有逆转肿瘤恶性特征的潜能,表明该蛋白具有同时调节多种通路的能力,是一个很有吸引力的治疗靶点<sup>[20]</sup>。

**3.1.4 ITSN1 在其它肿瘤中的作用** ITSN1 在参与细胞胞吞胞吐的过程中,会参与调节整合素的内吞作用。有研究报道,整合素与肿瘤的迁移和侵袭相关,能够介导细胞与细胞之间以及细胞和其外环境之间的粘附连接<sup>[21]</sup>,也可以调控细胞内多种信号通路<sup>[22]</sup>,通过衔接细胞内外信号的传导过程促进细胞增殖、分化、侵袭和转移,进而促进癌症的发展<sup>[23]</sup>。因此,在此过程中,了解 ITSN1 对整合素内吞过程中的作用是极其必要的。

迄今为止,已经有很多研究报道了 ITSN1 在胞吞胞吐中的功能,可以说,支架蛋白 ITSN 家族是网格蛋白介导的内吞作用起始阶段的关键组成部分<sup>[24]</sup>。多项研究表明 ITSN1 所包含的多种不同结构域与内吞机制的许多相关蛋白组分之间存在密切的相互作用,包括发动蛋白、AP2、FCHo1/2、Eps15、突触囊泡磷酸酶以及 Epsin 家族蛋白等<sup>[8-9,24-27]</sup>。

ITSN1 通过参与网格蛋白和小窝蛋白介导的内吞作用,进而参与到胞膜转运过程中<sup>[28]</sup>。而网格蛋白的积累过程是由胞吞衔接蛋白协调的,例如 AP2 和 Dab2。其中,Dab2 可以通过招募含有 EH 结构域的支架蛋白,如:ITSN,来调节整合素  $\beta$ 1 的内吞作用<sup>[8]</sup>。在结肠癌细胞中,胞浆内大量整合素进入细胞的内吞和胞吐循环后,会使内吞胞吐循环速度加快,从

而促进结肠癌细胞的迁移和侵袭过程。以上结果均表明,ITSN1 在胞吞胞吐中的作用可能与结肠癌肿瘤细胞的迁移和侵袭密切相关。

此外,有研究表明,ITSN1 的丢失会导致 PAK1、LIMK1、AKT 和整合素  $\beta$  的激活程度降低,提示 ITSN1 可能参与调节对肿瘤发生至关重要的通路。PI3KC2 $\beta$  在结肠上皮细胞中的过表达会导致原癌转化。PI3KC2 $\beta$  启动子区的单核苷酸多态性与前列腺癌的风险增加也有关,表明该蛋白在前列腺癌中的表达增强<sup>[29]</sup>。此外,PI3KC2 $\beta$  的 mRNA 水平在许多癌症中均有上升的趋势,比如:胰腺癌、混合谱系白血病以及急性髓细胞白血病。最近的研究表明,PI3KC2 $\beta$  参与了急性髓系白血病、胶质母细胞瘤、髓母细胞瘤和小细胞肺癌的致瘤特性<sup>[30]</sup>。ITSN1 在胰腺癌中的过表达,提示上调 ITSN1-PI3KC2 $\beta$  信号通路可能参与胰腺癌的发生发展。因此,进一步研究 ITSN-PI3KC2 $\beta$  复合物调控的肿瘤信号通路,对多种肿瘤类型有重要的治疗意义。

**3.2 ITSN2 在肿瘤中的作用** 除了 ITSN1 以外,ITSN2 也与癌症有关;然而,与 ITSN1 相反的是,Specht 等的结果表明:ITSN2 在乳腺癌患者的高表达水平与患者的预后改善以及无病生存期的延长有关,提示 ITSN2 在肿瘤发生中可能起到保护或抑制肿瘤的作用。ITSN 的不同亚型在不同的组织和细胞中所起到的作用各不相同,这表明其在各种信号通路中的调节作用是特定于组织和疾病的。因此,未来对于 ITSN1 和 ITSN2 在肿瘤发生中所产生的截然相反的作用的具体分子机制的研究是十分必要的。

## 4 展望

肿瘤是对人类生命健康有着严重威胁的人类疾病,具有发病率高且病情发展极其迅速的特点,也正因此,对于临床治疗过程来说,产生了非常大的困难。虽然在科学界,对于肿瘤的发生发展的分子机制的相关研究一直在不断地进行,治疗的方法和手段也在不断地进步,但是,肿瘤的确切的发病机制还尚不清楚。

ITSN 是一种进化保守的支架蛋白,与多种生化过程密切相关。起初,ITSN 被认为是细胞内的调节物,现在,越来越多的研究表明 ITSN 在众多信号通路中以及在人类疾病,尤其是人类肿瘤中发挥着重要的作用。

大量的功能学和遗传学研究表明,ITSN 蛋白在细胞内吞和胞吐过程中,可以作为各种蛋白质组装的重要的支架蛋白,对于促进细胞内吞和细胞外排

过程具有重要意义,也因此可以对整合素的内吞作用进行调节,使整合素进入细胞的内吞和胞吐循环,并使内吞胞吐循环速度加快,从而促进癌细胞的迁移和侵袭过程。此外,ITSN 对于侵袭性癌细胞形成侵入性伪足的过程也起着至关重要的作用。

目前,虽然科学界在理解 ITSN 功能等方面取得了重大的进展,并有研究报道了 ITSN 在肿瘤的发生、发展以及迁移、侵袭等过程中所产生的作用。但是,目前的研究主要集中在 ITSN 所参与的细胞信号通路以及调控内源性细胞途径等方面,对于 ITSN 在肿瘤中具体的生物学功能及相应的作用机理还尚不明确,此外,迄今还没有研究出针对肿瘤中 ITSN 所产生的不利影响的治疗方法。因此,对于 ITSN 在肿瘤中的分子作用机制以及应对疗法的进一步的研究,需要通过相关的基础医学研究和临床研究的相互结合来进行更加深入的探讨。

## 参考文献:

- [1] Tsyba L, Nikolaienko O, Dergai O, et al. Intersectin multidomain adaptor proteins: regulation of functional diversity[J]. *Gene*, 2011, 473(2):67
- [2] Garcia E H, John P. Intersectin scaffold proteins and their role in cell signaling and endocytosis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1864(1):23
- [3] Hunter M P, Nelson M, Kurzer M, et al. Intersectin 1 contributes to phenotypes in vivo: implications for Down Syndrome[J]. *Neuroreport*, 2011, 22(15):767
- [4] O'Bryan J P. Intersecting pathways in cell biology[J]. *Sci Signal*, 2010, 3(152):re10
- [5] Hunter M P, Russo A, O'Bryan J P. Emerging roles for intersectin (ITSN) in regulating signaling and disease pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(4):7829
- [6] Kropyvko S, Gryaznova T, Morderer D, et al. Mammalian verprolin CR16 acts as a modulator of ITSN scaffold proteins association with actin[J]. *Bioch Biophys Res Commun*, 2017, 484(4):813
- [7] Kropyvko S, Gerasymchuk D, Skrypina I, et al. Structural diversity and differential expression of novel human intersectin 1 isoforms[J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(6): 2789
- [8] Teekchandani A, Mulkearns E E, Randolph T W, et al. The clathrin adaptor Dab2 recruits EH domain scaffold proteins to regulate integrin  $\beta$ 1 endocytosis[J]. *Mol Biol Cell*, 2012, 23(15):2905
- [9] Wong K A, Wilson J, Russo A, et al. Intersectin (ITSN) family of scaffolds function as molecular hubs in protein interaction networks[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e36023
- [10] Wong K A, Russo A, Wang X, et al. A new dimension to Ras function: a novel role for nucleotide-free Ras in Class II phosphatidylinositol 3-kinase  $\beta$  (PI3KC2 $\beta$ ) regulation[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9):e45360
- [11] Frosi Y, Anastasi S, Ballaro C, et al. A two-tiered mechanism of EGFR inhibition by RALT/MIG6 via kinase suppression and receptor degradation[J]. *J Cell Biol*, 2010, 189(3):557
- [12] Okur M N, Russo A, O'Bryan J P. Receptor tyrosine kinase



- ubiquitylation involves the dynamic regulation of Cbl-Spry2 by intersectin 1 and the Shp2 tyrosine phosphatase[J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(2):271
- [13] Zhang W, Shen Y, Xiong G, et al. Crystal structure of human Intersectin-2L C2 domain[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 431(1):76
- [14] Gu F, Zhang H, Qin F, et al. Intersectin1-S, a multidomain adapter protein, is essential for malignant glioma proliferation[J]. *Glia*, 2015, 63(9):1595
- [15] Russo A, O'Bryan J P. Intersectin 1 is required for neuroblastoma tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2012, 31(46):4828
- [16] Louis C U, Shohet J M. Neuroblastoma: molecular pathogenesis and therapy[J]. *Annu Rev Med*, 2015, 66(1):49
- [17] Pugh T J, Morozova O, Attiyeh E F, et al. The genetic landscape of high-risk neuroblastoma[J]. *Nat Genet*, 2013, 45(3):279
- [18] Hunter M P, Russo A, O'Bryan J P. Emerging roles for Intersectin (ITSN) in regulating signaling and disease pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(4):7829
- [19] Ma Y, Wang B, Li W, et al. Intersectin1-s is involved in migration and invasion of human glioma cells[J]. *J Neurosci Res*, 2011, 89(7):1079
- [20] Jegathan N, Predescu D, Zhang J. Rac1-mediated cytoskeleton rearrangements induced by intersectin-1s deficiency promotes lung cancer cell proliferation, migration and metastasis [J]. *Molecular Cancer*, 2016, 15(1):59
- [21] Pinon P, WehrleHaller B. Integrins: versatile receptors controlling melanocyte adhesion, migration and proliferation[J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2011, 24(2):282
- [22] Caswell P T, Vadrevu S, Norman J C. Integrins: Masters and slaves of endocytic transport[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(12):843
- [23] De Franceschi N, Hamidi H, Alanko J, et al. Integrin traffic-The update[J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(5):839
- [24] Henne W M, Boucrot E, Meinecke M, et al. FCHo proteins are nucleators of clathrin-mediated endocytosis[J]. *Science*, 2010, 328(5983):1281
- [25] Mayers J R, Wang L, Pramanik J, et al. Regulation of ubiquitin-dependent cargo sorting by multiple endocytic adaptors at the plasma membrane[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(29):11857
- [26] Sundborger A C, Hinshaw J E. Regulating dynamin dynamics during endocytosis[J]. *F1000 Prime Rep*, 2014, 6:85
- [27] Tsyba L, Nikolaienko O, Dergai O, et al. Intersectin multidomain adaptor proteins: regulation of functional diversity[J]. *Gene*, 2011, 473(2):67
- [28] Gubar O, Morderer D, Tsyba L, et al. Intersectin: the crossroad between vesicle exocytosis and endocytosis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2013, 4:109
- [29] Koutros S, Schumacher F R, Hayes R B, et al. Pooled analysis of phosphatidylinositol 3-kinase pathway variants and risk of prostate cancer[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(6):2389
- [30] Boller D, Doepfner K T, de Laurentis A, et al. Targeting PI3KC2beta impairs proliferation and survival in acute leukemia, brain tumours and neuroendocrine tumours[J]. *Anticancer Re*, 2012, 32(8):3015

(2018-12-18 收稿)

(上接第 661 页)

## 参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:154
- [2] 孟甜.红景天总鞣质的提取纯化工艺和质量标准研究[D].成都:西华大学,2010:126
- [3] Liu Z L,Chao Z M,Liu Y Y,et al.Maillard reaction involved in the steaming process of the root of Polygonum multiflorum[J]. *Plant Med*, 2009, 75(1):84
- [4] 刘青,李志勇,张洋子,等.葡萄酒中 5-羟甲基糠醛含量的测定[J].*酿酒科技*,2016(11):107
- [5] Zirbes L, Nguyen B K, De Graaf D C, et al. Hydroxymethylfurfural: a possible emergent cause of honey bee mortality [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(49):11865
- [6] 温超,王紫梦,石星波,等.食品中丙烯酰胺与 5-羟甲基糠醛的研究进展[J].*食品科学*,2015,36(13):257
- [7] 赵颖,张璐欣,李越.5-羟甲基糠醛的研究概况[J].*医学综述*, 2016,22(17):3431
- [8] 艾则孜·穆合买提,贺玖明,孙江浩,等.中药注射液中 5-羟甲基糠醛含量测定的 LC-MS/MS 分析方法研究[J].*药物分析杂志*, 2010,30(7):1195
- [9] 国家药典委员会.中国药典(二部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:1270
- [10] 贾晓斌,王晓雷,蔡宝昌,等.含丹参的葡萄糖注射液中 5-羟甲基糠醛的检查方法研究[J].*中成药*,2003,3(25):191

(2019-02-27 收稿)