

文章编号 1006-8147(2014)04-0335-03

综述

SRCs 与生殖系统疾病的关系

刘雅博 综述

(天津市中心妇产科医院, 天津 300199)

关键词 核受体; 甾体受体共调节因子; 生殖系统疾病; 肿瘤
中图分类号 R71 **文献标志码** A

甾体受体共激活因子(steroid receptor coactivators, SRCs)是众多共调节因子中最被关注,也是目前研究最多的。SRCs 是 p160 家族成员,在人类生殖、代谢、免疫和肿瘤方面均扮演至关重要的角色。它们的首要功能是通过上游信号系统的动态调节以增强核受体及其他转录因子的转录活性。这些上游信号系统发出各种转录后修饰密码作用于共调节因子蛋白。这些动态的可逆的转录后修饰是决定蛋白稳定性的关键。SRCs 就是这样一个信号整合中心,在卵巢、子宫、前列腺、乳腺等生殖系统都有着丰富的表达。本文就 SRCs 的分子结构特点、分子功能机制、与生殖系统疾病的关系做一综述。

1 背景

人们对 SRCs 的研究始于 20 世纪 70 年代^[1]。开始发现了一种细胞核非组织辅助蛋白。这种蛋白能支持转录因子与 DNA 的结合,促进核受体(NR)的转录。又发现一个过表达的核受体能间接抑制其它核受体的转录活动,在体外培养提纯的由核受体及转录因子组成的转录系统转录效率降低,进一步提示有效的甾体介导的转录活动需要另外一些转录共调节因子的参与。于是在 1995 年, SRC-1 作为核受体的共激活因子首次被克隆成功。

2 分子特征

SRC 包括 3 个结构域。N-端的保守序列是一个碱基螺旋环状(bHLH-PAS)结构域,较为稳定,需蛋白与蛋白相互作用。中间区域为 3 个 LXXLL 的结构(L 为亮氨酸, X 为任意氨基酸)组成的两性 α 螺旋,负责与核受体互相作用。C-端包括 2 个转录活性区(AD1、AD2)。AD1 与 CBP 和 p300 的组蛋白乙酰基转移酶(HAT)结合成聚合体,这是 SRC 调节 NR 转录活性的关键。AD2 与其他调节因子(CARM1、PRMT1)的精氨酸甲基转移酶相互作用。而 SRC-1 和 SRC-3 均有内在乙酰转移酶活性^[2]。

作者简介 刘雅博(1975-),女,主治医师,硕士,研究方向:妇产科;
E-mail: yabo_l@hotmail.com。

SRCs 的这些分子结构特征决定了他可募集共调节因子和转录因子,使染色体重塑,转录因子、RNA 聚合酶 II 聚集,以增强转录活性。

3 分子作用机制

SRCs 包括 3 个同源异构体: SRC-1, SRC-2, SRC-3。大量研究证实通过甾体激素、生长因子和细胞因子等激活多种信号通路,从而介导了多样化的 SRCs 转录后修饰,包括磷酸化、泛素化、乙酰基化、甲基化等。这些转录后修饰决定或调节 SRC 蛋白稳定性。SRC 数量及活性的改变是人体细胞调节基因表达的有效方法。

3.1 磷酸化 SRC 磷酸化改变了对核受体的亲和性,调节了核受体依赖性基因表达。ER 均通过 LXXLL 结构域与调节蛋白相互作用。为明确他们之间如何发生作用,研究人员设计了 X(7)-LXXLL-X(7)T7 噬菌体模型。结果显示,当 LXXLL 多肽呈酸性时更易与 ER β 、ER α 结合, LXXLL 多肽呈碱性时则易与 ER α (pY537)和 ER β (pY488)相结合,即酪氨酸 537 磷酸化的 ER α 、酪氨酸 488 磷酸化的 ER β 。而自然界的 LXXLL 多肽是呈酸性的,说明酪氨酸的磷酸化在调节 SRCs 与 ER 相互作用方面起至关重要的作用^[3]。经表皮生长因子(EGF)、白介素 6(IL-6)、环磷酸腺苷(cAMP)处理,刺激了脯氨酸激酶,使 SRC-1 在苏氨酸 1179、丝氨酸 1185 上磷酸化,从而在配体依赖和非配体依赖的核受体通路其活性均有加强。有趣的是,EGF 增强的是孕激素依赖性受体的转录,IL-6 通过非配体依赖方式提高雄激素依赖性受体的转录, cAMP 募集 CBP、p300 并由非配体依赖方式提高孕激素依赖性受体的转录。

3.2 泛素化 最近,在 NR 与 SRC-3 相作用区域的赖氨酸 723 和赖氨酸 786 两个单个位点的泛素化被确认。丝氨酸 505 被糖原合成激酶 3(GSK3)磷酸化和经 p38MARK 的丝氨酸 860 磷酸化不仅可加强 SRC-3 与 ER(雌激素受体)、AR(雄激素受体)的相互作用,也调节 SRC-3 的泛素化和蛋白稳定性。

3.3 乙酰化及甲基化 在转录初始化后, SRC-3 通过 CBP/p300 被乙酰化, 导致 SRC3 与核受体复合物解体, 转录终止。雌激素刺激可提高 CARM-1 与 SRC-3 复合物在精氨酸 1171 的甲基化程度, 通过复合物解体来终止转录。

3.4 共激活因子 如 SRC-2、SRC-3 通过多种联合的转录后修饰可使糖皮质激素受体与 ER 发生聚集, 从而对 ER 进行精细调节^[4]。这种内源性靶基因间的相互作用已在乳腺癌细胞上得到证实。

4 与生殖系统疾病的关系

共调节因子是妊娠、子宫生长、囊胚种植和乳腺发育的基础。一旦在数量或活性上发生突变, 就会造成生殖组织功能失调, 甚至导致肿瘤的发生发展^[5]。

4.1 与乳腺癌的关系 SRC-3 与许多肿瘤及其预后相关, 在乳腺肿瘤细胞增殖、转移、侵袭和代谢方面 SRC-3 扮演重要角色。通过增强 ER α 、E2F1 功能, IGF-1 信号通路, EGF 受体和 ERBB2 活性, MMP9 表达来实现其作用。剔除 SRC-3 的小鼠抑制乳腺肿瘤细胞的更新、生长和代谢, 而 SRC-3 过表达的小鼠乳腺上皮细胞多介导自发的乳腺癌基因的表达。SRC-1 在乳腺癌亚型中有升高, 与 ERBB2 阳性正相关, 与低生存率相关。剔除了 SRC-1 的乳腺癌细胞抑制了细胞的增殖^[1]。在乳腺癌方面, 除了研究较多的 SRC-1 和 SRC-3^[6], 近来有 SRC-2 的相关研究表明 SRC-2 有抗 MCF-7 型乳腺癌细胞增殖作用^[7]。共激活因子掌控选择性受体调节因子与核受体间的相互作用。如 ER α 转录活性区存在着雌激素及抗雌激素的启动子^[8]。本身为抗雌激素作用的选择性受体调节因子 4-羟基他莫西芬在缓慢持续作用时是 ER α 的激活剂。有动物模型显示, 他莫西芬刺激了 SRCs 及 HER(人表皮生长因子受体)2、HER3 的表达。即在经他莫西芬处理的肿瘤组织中 SRCs 及 HER2、HER3 的蛋白表达较对照组明显升高。经两年 4-羟基他莫西芬治疗的绝经后乳腺癌妇女, 骨密度增强, 且在内膜有类似雌激素的效果^[9]。

4.2 与卵巢肿瘤的关系 卵巢上皮性癌中有 25% 存在 SRC-3 的过表达。SRC-3 与卵巢上皮性肿瘤期别密切相关, 是独立的预后指标。其表达增加提示预后差。在用单一铂类化疗的患者中 SRC-3 表达增高的多发生铂类耐药, 需加用紫杉醇^[10-11]。

4.3 与前列腺肿瘤的关系 SRC-3 在表达前列腺肿瘤基因的小鼠中升高。剔除 SRC-3 能有效抑制前列腺肿瘤进展, 使其停留在分化良好的阶段。SRC-1 在前列腺癌中过表达导致早期肿瘤化疗耐药。有研

究表明 SPOZ 在前列腺癌中的突变促进 SRC3 蛋白的泛素化及降解, 抑制雄激素受体的转录活性^[12]。

4.4 胎膜受甾体激素的影响 SRC 在早产和足月产中占重要地位。有研究显示 SRC-1 在羊膜的表达比绒毛膜-蜕膜中高, 而 SRC-2 则刚好相反。生产前绒毛膜-蜕膜中 SRC-1 的表达明显高于产后。与蛋白表达相对应的是 SRC-1 mRNA 水平在绒毛膜-蜕膜要高于羊膜。SRC-2 的 mRNA 水平在两组织中没有变化^[13]。

4.5 子宫内膜异位症 子宫内膜异位症被认为是一种雌激素依赖的炎症性疾病。子宫内膜异位症患者的异位组织中 SRC-1 的表达密度低于其在正常子宫内膜的表达^[14]。一项 SRCs 在卵巢子宫内膜异位症的表达类型的研究中, 以免疫组化及 RT-PCR 为方法, 发现 SRC-1 在卵巢子宫内膜异位有优势表达, 且影响 ER α 的转录活性^[15]。最近有研究发现 TNF- α -MMP9-SRC-1 同分异构体轴促进内膜异位症的发生发展。TNF- α 介导 MMP9 活性增强, 而 MMP9 使 SRC-1 水解为 70-kDa 的同分异构体, 从而逃避了免疫监视, 避免了内膜上皮细胞的凋亡, 使上皮间质转化, 具有了异位症侵袭性的特点^[16]。

5 疾病的治疗与预测

在治疗方面, 目前为止大多数的靶向化疗都是通过封锁一条促进细胞生长的信号通路来达到治疗目的。而肿瘤细胞通常转换其他的生长因子路径发生耐药。SRCs 作为多种信号通路传入的枢纽, 起到整合各种信息的整合器作用^[17]。所以 SRCs 的小分子抑制剂对耐药的肿瘤细胞开辟了新的药物治疗前景^[18]。如糖苷类强心剂 Bufalin 能明显促进 SRC3 的降解, 减少乳腺癌异体种植鼠模型的肿瘤细胞生长^[19]。通过活体小鼠模型, 揭示了 SRC 家族成员对孕激素受体基因转录和功能的动态调节。慢性孕酮刺激减少体腔上皮及腺体上皮共激活因子的表达, 从而降低 PR 活性。有文章报道了新型孕激素受体拮抗剂 APR19, 与 RU486-PR 复合物相比, APR19 结合 PR 使其不能与 SRC-1、SRC-2 相互作用, 抑制共激活因子所介导的丝氨酸 294 磷酸化所调节的 PR 转录活性^[20]。多研究表明 SRC3 与乳腺癌的侵袭性有关, SRC-2 的突变与前列腺癌细胞的代谢有关^[21], SRC-1 与肿瘤耐药性相关。所以我们有理由相信, 随着全基因组关系的研究进展, 蛋白抗体 Meta 序列和蛋白质组学的技术发展, SRCs 有望成为人类疾病更为有效的生物标志物^[5]。

参考文献:

- [1] Xu J, Wu R C, O'malley B W. Normal and cancer-related functions

of the p160 steroid receptor co-activator (SRC) family [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(9): 615

[2] 王雪莹, 王瑞安. 雌激素受体在肿瘤中的生物学作用[J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(3): 625

[3] Nguyen H D, Phan T T, Carraz M, et al. Estrogen receptor α/β -co-factor motif interactions; interplay of tyrosine 537/488 phosphorylation and LXXLL motifs[J]. Mol Biosyst, 2012, 8(12): 3134

[4] Bolt M J, Stossi F, Newberg J Y, et al. Coactivators enable glucocorticoid receptor recruitment to fine-tune estrogen receptor transcriptional responses[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(7): 4036

[5] York B, O'malley B W. Steroid receptor coactivator (SRC) family: masters of systems biology[J]. J Biol Chem, 2010, 285(50): 38743

[6] Lanz R B, Bulynko Y, Malovannaya A, et al. Global characterization of transcriptional impact of the SRC-3 coregulator[J]. Mol Endocrinol, 2010, 24(4): 859

[7] Fenne I S, Helland T, Flåeng M H, et al. Downregulation of steroid receptor coactivator-2 modulates estrogen-responsive genes and stimulates proliferation of mcf-7 breast cancer cells[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e70096

[8] Johnson A B, O'malley B W. Steroid receptor coactivators 1, 2, and 3: critical regulators of nuclear receptor activity and steroid receptor modulator (SRM)-based Cancer therapy[J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 348(2): 430

[9] Moi L L, Flåeng M H, Gjerde J, et al. Steroid receptor coactivators, HER-2 and HER-3 expression is stimulated by tamoxifen treatment in DMBA-induced breast cancer[J]. BMC Cancer, 2012, 12: 247

[10] Palmieri C, Gojis O, Rudraraju B, et al. Expression of steroid receptor coactivator 3 in ovarian epithelial cancer is a poor prognostic factor and a marker for platinum resistance[J]. Br J Cancer, 2013, 108(10): 2039

[11] Thigpen T, Dubois A, Mcalpine J, et al. First-line therapy in ovarian cancer trials[J]. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21(4): 756

[12] Geng C, He B, Xu L, et al. Prostate cancer-associated mutations in speckle-type POZ protein (SPOP) regulate steroid receptor coactivator 3 protein turnover[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(17): 6997

[13] Ou C W, Sun M, Sadej W, et al. Expression of nuclear receptor coactivators in the human fetal membranes at term before and after labor[J]. Obstet Gynecol Int, 2012, 2012: 717294

[14] Suzuki A, Horiuchi A, Oka K, et al. Immunohistochemical detection of steroid receptor cofactors in ovarian endometriosis: involvement of down-regulated SRC-1 expression in the limited growth activity of the endometriotic epithelium[J]. Virchows Arch, 2010, 456(4): 433

[15] Kumagami A, Ito A, Yoshida-Komiya H, et al. Expression patterns of the steroid receptor coactivator family in human ovarian endometriosis[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2011, 37(10): 1269

[16] Han S J, Hawkins S M, Begum K, et al. A new isoform of steroid receptor coactivator-1 is crucial for pathogenic progression of endometriosis[J]. Nat Med, 2012, 18(7): 1102

[17] Hsia E Y, Goodson M L, Zou J X, et al. Nuclear receptor coregulators as a new paradigm for therapeutic targeting[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2010, 62(13): 1227

[18] Wang Y, Lonard D M, Yu Y, et al. Small molecule inhibition of the steroid receptor coactivators, SRC-3 and SRC-1[J]. Mol Endocrinol, 2011, 25(12): 2041

[19] Wang Y, Lonard D M, Yu Y, et al. Bufalin is a potent small-molecule inhibitor of the steroid receptor coactivators SRC-3 and SRC-1[J]. Cancer Res, 2014, 74(5): 1506

[20] Khan J A, Tikad A, Fay M, et al. A new strategy for selective targeting of progesterone receptor with passive antagonists[J]. Mol Endocrinol, 2013, 27(6): 909

[21] Taylor B S, Schultz N, Hieronymus H, et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer[J]. Cancer Cell, 2010, 18(1): 11

(2014-03-24 收稿)

(上接第 331 页)

80 在注射剂中使用也有同类报道。聚乙二醇 15 硬脂酸酯乳化剂的刺激性比聚氧乙烯 35 蓖麻油略小。

表面活性剂是除防腐剂之外另一个可能引起刺激性的添加剂,本试验中分别选择吐温 80、聚氧乙烯 35 蓖麻油、聚乙二醇 15 硬脂酸酯 3 种表面活性剂。通过影响因素和低温循环试验,对比对应制剂的稳定性。同时,通过对家兔的眼部刺激性考察对其安全性进行预测。

采用聚乙二醇 15 硬脂酸酯作为乳化剂时,乳液的粒径均一度较高,采用除菌过滤时阻力小,进行生产规模放大时可行性高。当对比 3 个供试处方的影响因素数据,3 种表面活性剂制备的乳剂在 40℃和光照试验中含量、pH 值、渗透压、粒径等质量指标均可以保持相当的稳定性,且区别不大,但在高温 60℃的条件下稳定性不足,容易发生破乳。以聚氧乙烯 35 蓖麻油为乳化剂制备的处方在低温循环中稳定性最佳,以吐温 80 和聚乙二醇 15 硬脂酸酯为乳化剂的处方在经历一个低温循环后均出

现了破乳。本次试验中所观察到的现象与原研说明书中阐明的储存条件(15~25℃)相符。

综合考虑不同乳化剂处方的效用与风险,我们将进一步研究聚乙二醇 15 硬脂酸酯乳化剂处方的制剂特性,尤其是替代 PemulenTM 的其他合适辅料。

参考文献:

- [1] Sinha R, Jhanji V, Verma K, et al. Efficacy of topical cyclosporine A 2% in prevention of graft rejection in high-risk keratoplasty: a randomized controlled trial[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2010, 248(8): 1167
- [2] 蒋正立. 环孢素 A 制剂的研究进展[J]. 海峡药学, 2005, 17(4): 8
- [3] 雷海云. 干眼症研究进展的综述[J]. 中外健康文摘, 2011, 8(27): 424
- [4] 蔡晓红. 杞菊地黄丸辅助玻璃酸钠治疗干眼症的疗效观察[J]. 中国疗养医学, 2013, 22(12): 1070
- [5] 上海医药工业研究院药物制剂部, 药物制剂国家工程研究中心. 药用辅料应用技术[M]. 第 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 339
- [6] 屠锡德. 药剂学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 392-392
- [7] Senju P C, Mitsubishi C C. Compositions containing difluprednate: United States, 6114319 [P]. 2000-09-05

(2014-02-21 收稿)