维普资讯 http://www.cqvip.com

综 述 文章编号:0253-3626(2007)07-0779-03

S100A6 的转录调控及其与肿瘤关系的研究进展

苗静琨 综述,周 兰 审校

(重庆医科大学生物医学工程系,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R73-37 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-03-09

S100 蛋白家族是一类非泛素化、EF- 手型钙结合蛋白,通过与钙离子及靶蛋白的相互作用,在体内发挥多种生物学作用,参与细胞周期活动、细胞分化、肿瘤生长以及细胞外基质分泌活动等过程。其分布具有细胞、组织特异性。其中多个成员在肿瘤中表达异常,并与肿瘤的增殖、浸润转移和凋亡密切相关[1],其中包括 S100A6。S100A6 又称为钙周期蛋白(Calcyclin,Cacy),过去也称为 2A9、5B10、PRA 和 CACY。

1 S100 蛋白家族概述

S100 蛋白是一组相对分子质量在 9000~13000 之间的酸性蛋白质,是 EF- 手型蛋白超家族中最大的多基因家族。迄今为止,发现的 S100 蛋白家族成员已有 23 个,包含 S100A1~A13、S100B、S100P、Profilaggrin、Trychohyalin、Reperin 等。其中有 15 个成员的基因在人染色体上的定是 lq21,该区段染色体稳定性差,易发生多种染色体重排,如杂合性缺失、易位、重叠等,与肿瘤关系密切[2,3]。

S100 蛋白具有两个 EF 手型结构(螺旋 - 环 - 螺旋钙结合域),中间为绞链区,两侧分别为羧基和氨基末端区域。其羧基端与钙离子的亲和性高,是氨基端的 100 倍,与钙离子结合后暴露出 EF 手型经典区(见图 1),此区与靶蛋白相互作用,参与细胞多种活动。羧基端和绞链区和在不同的 S100 蛋白之间是可变的,此为 S100 蛋白各亚型的特征,而氨基端在进化过程中结构保守。在细胞内大多数 S100 蛋白以反平行同源二聚体形式存在,它是 S100 蛋白发挥生物学功能的重要形式[4]。

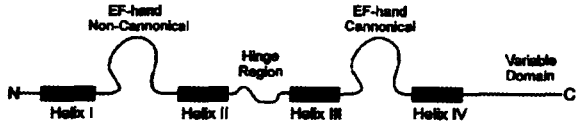


图 1 S100 蛋白结构简图[5]

作者介绍:苗静琨(1979-),女,硕士,主要研究方向:肿瘤分子机制。

基金项目:国家自然科学基金(30340039);2003 年教育部"春晖计划"科研启动经费资助项目;2004 年重庆市留学回国人员启动基金。

S100 蛋白可通过阻碍激酶接近底物而抑制蛋白的磷酸化,调节酶活性,维持钙稳态,调节细胞骨架的流动性(调节肌丝流动性,抑制微管组装,促进Ⅲ型介导肌丝解聚),参与细胞的生长和分化等[2,3]。某些 S100 蛋白,如 S100B、S100A6 和 S100All,还可结合锌离子,且亲和力高[6],但其功能不明。

现已发现多个 S100 成员在肿瘤中表达异常,并与肿瘤的增殖、浸润转移和凋亡密切相关。S100A6 就是其中一员。

2 S100A6 与肿瘤

2.1 S100A6 的发现及基因的染色体定位

S100A6 蛋白最初由 Kuznicki 和 Filipek 在 Ehrlich 腹水瘤中检出。它在细胞内广泛分布,主要存在于胞质、胞膜以及核被膜上,包括核膜的内表面。其分布受细胞分裂状态和钙离子浓度的影响(详见 2,3)。

S100A6 基因位于人染色体的 lq21 的 250~350kb 之间,并与 S100A1~5、S100A7~10、S100C 等 Sl00 基因家族成员、表皮分化基因及原癌基因 ski 比邻。

2.2 S1OOA6 基因结构及转录调控

S1OOA6(GenBank accession number,M18981)是单拷贝基因,包含 3 个外显子,被两个内含子所分隔。全长共 470 个核苷酸,起始密码 TGA 位于 103bp 处,终止密码位于 373bp 处。因此开放阅读框为 270 个核苷酸,共编码 90 个氨基酸。

转录因子中的上游刺激因子 (Upstream stimulatory factor,USF)可以结合 S1OOA6 基因启动子中位于 -283/-278 和 -593/-588 的两个 E-box,从而启动转录;用 deoy 寡核苷酸去除 USF,则抑制 S100A6 基因启动子活性;软脂酸盐也可以作用于这两个 E-box 激活转录,但不能与突变的 -283/-278 E-box 序列结合[7]。引起氧化应激的因子也可与位于 -290/-281 的抗氧化应答元件(Antioxidant response element, ARE),结合,启动 S100A6 的转录;突变的 ARE 则抑制转录[8]。此外,NF-κB 还能结合于启动子 -460/-451 区域,促进了 S1OOA6 的转录,该转录激活参与了肝癌细胞 HepG2 对 TNF-α 的应答[9]。

S1OOA6 的 cDNA(GenBank accession number,BC001431)序列中 120~506bp 是其蛋白的编码序列和 C 末端序列,5'

维普资讯 http://www.cqvip.com

端 1~119bp 是 N 末端序列，用丹麦科技大学 SignalP3.0 server 提供的人工神经网络计算法分析 N 末端序列表明 1—16bp 可能编码信号肽序列，最有可能的信号肽切割位点在 16~17bp;用 HMM(Hidden markov models)法分析这段核酸含有信号肽的可能性为 0.725，最大可能切割位点在 109~110bp。尽管具体切割位点有差异,但是这两种方法分析的结果均提示 S100A6cDNA 存在 N 端信号肽序列，所以推测 S100A6 能被分泌到细胞外，以旁分泌或 / 和自分泌的方式发挥作用。

2.3 S100A6 及其靶蛋白

S100A6 蛋白相对分子质量为 10235,其活性形式是同源二聚体,与钙离子结合后暴露出 EF 手型经典区,该区可与多种靶蛋白结合,如钙调结合蛋白、原肌球蛋白、甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶、膜联蛋白 Ⅱ、膜联蛋白 Ⅵ、膜联蛋白 XI(又称为 CAP-50)、钙周期蛋白结合蛋白 (Calcyclin binding protein, CacyBP)等[10,11]。在细胞内,S100A6 与膜联蛋白家族成员相互作用,特别是膜联蛋白 XI。增加细胞内钙离子浓度膜联蛋白 XI从核内转移至核膜;在细胞有丝分裂过程中膜联蛋白 XI也会改变其细胞定位:分裂间期和前期,膜联蛋白 XI位于细胞核中;中前期从核内转移到核膜上,与 S100A6 位于相同的位置;中后期当核膜崩解时,二者开始聚积在连接多肽 2 和核膜皱褶的片层上;此后至末期,S100A6 降解;分裂后期膜联蛋白 XI参予了核膜重建,间期又回到核中。S100A6 蛋白在 G0-S 期表达水平最高。这提示 S100A6 可能与细胞周期有关[12,13]。

2.4 S100A6 在肿瘤中异常表达及作用

2.4.1 S100A6 在肿瘤中的异常表达 当静止细胞在生理或病理条件下受到血清、表皮生长因子、血小板源生长因子、神经生长因子、视黄酸、缺血性损伤等刺激时,胞内 S100A6 的表达会有显著的升高。

S100A6 在多数上皮肿瘤如黑色素瘤、肝癌、结直肠肿瘤、胰腺癌、胆管癌、多数骨肉瘤、卵巢癌、ras 转化的 NIH3T3 细胞、SV40 转化的鼠成纤维细胞、人急性粒细胞白血病等许多肿瘤中高表达。所以,推测 S100A6 的异常表达与肿瘤细胞的增殖和分化密切相关。同时它多聚集于肿瘤边缘,也可能与肿瘤侵袭迁移有关[14]。

2.4.2 S100A6 在肿瘤中的作用 Weterman MA 发现 S100A6 在黑色素瘤中的表达高于痣细胞痣(Nevocellular nevi),且其在裸鼠体内移植的高转移黑色素瘤中的表达高于低转移黑色素瘤[15]。MaelandsmoGM 也有类似研究结果:S100A6 的高表达与黑色素瘤细胞的转移能力呈正相关,并与患者存活期相关,低表达者存活时间长于高表达者[16]。此外，S100A6 在细胞核中的高表达与胰腺癌的预后呈负相关[17]。

细胞水平实验，揭示 S100A6 在胰腺癌组织及其分泌的胰液中 S100A6 mRNA 高表达;RNAi 阻遏 S100A6 的翻译后,胰腺癌细胞株 CFPAC-1 的增殖被抑制[18]。有学者也发现反义 RNA 结合 S1006 RNA 后,抑制了血清刺激后肺成纤维细胞的增殖[19]。S100A6 表达增高也可见于生长因子刺激的静止成纤维细胞的增殖。

然而,也有与 S100A6 上述作用相反的报道。Tonini 在视黄酸诱导神经母细胞瘤分化时,S100A6 mRNA 增加[20]。在 86% 的骨肉瘤患者中 S100A6 均有表达，其表达增加与骨肉瘤转移减少有关,且抑制了骨肉瘤细胞的运动和不依赖支持物的生长[21]。

因为用人工神经网络计算法和 HMM 法分析均预测 S100A6 有信号肽序列,可被分泌到细胞外,所以它可以旁 / 自分泌的方式作用于其他细胞发挥作用。Hsiao-Ling Hsieh 用组织微点阵法做了人肿瘤 S100 蛋白和 RAGE(The receptor for advanced glycation end products) 的表达分析,RAGE 和 S100A6 多位于肿瘤胞浆中，双荧光染色显示二者有相似的亚细胞定位[22]。这提示细胞外 S100A6 可能通过 RAGE 发挥作用。

细胞内的 S100A6 蛋白，与甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶、原肌球蛋白、P30、膜联蛋白 XI等相互作用形成的复合物参与细胞的增殖。同时,S100A6 也作为一种钙结合蛋白,参予细胞信号转导过程,但具体的作用还需进一步探索。

尽管对 S100A6 蛋白的性质以及结构等方面已有一定了解,但不够全面,需要在以后的研究中拓宽,特别是它在细胞增殖、凋亡、肿瘤发生发展等过程中的作用和机制以及其靶蛋白分子的鉴定等方面。随着蛋白质组学方法、生物信息学工具以及基因芯片、RNA 干扰、小 RNA 等分子生物学技术的应用及改进,S100A6 基因的表达和生物学功能会逐步明朗化,有望应用于肿瘤及其转移的早期检测、诊断和治疗。

参 考 文 献

[1] 姬峻芳.S100 蛋白家族与肿瘤[J].国外医学肿瘤学分册,2002;29:261-263.

[2] Donato R.Intracellular and extracellular roles of S-100 proteins [J].Microsc Res Tech,2003;60(6):540-551.

[3] Donato R.S100:a muhigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles[J].Int J Biochem Cell Biol,2001;33(7):637-668.

[4] Ethan DE,Leigh CM,Peter HW. S100 proteins and their influence on pro-survival pathways in cancer[J].Int Biochem Cell Biol, 2004;82:508-515.

[5] Richard LE,Ann-Marie B,Monica R.S100 proteins in the epidermis[J].J Investigative Dermatology,2004;123:23-33.

[6] Kordowska J,Stafford WF,Wang CL. $Ca^{2+}$and Zn^{2+} bind to different sites and induce different conformational changes in human calcyclin[J].Eur J Biochem,1998;253(1):57-66.

[7] Lesniak W,Kuznicki J. Binding and functional characteristics of two E-box motifs within the S100A6 (calcyclin) gene promoter[J].J Cell Biochem,2006;97(5):1017-1024.

[8] Lesniak W,Szczepanska A,Kuznicki J. Calcylin (S100A6) expression is stimulated by agents evoking oxidative stress via the an

维普资讯 http://www.cqvip.com

tioxidant respose element [J].Biochim Biophys Acta,2005;1744(1):29-37.

[9] Joung Hyuck Joo,Jae Wha Kim,Younghee Lee,et al.Involvement of NF-κB in the regulation of S100A6 gene expression in human hepatoblastoma cell line $HepG_2$[J].Biochem Biophys Res Commun,2003;307:274-280.

[10] Zeng FY,Gerke V,Gabins HJ.Identification of annexin II, annexin VI and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase as calcyclin-binding proteins in bovine heart[J].Int Biochem Cell Biol,1993;25(7):1019-1027.

[11] Nowotny M,Spiechowicz M,Jastrzebska B,et al.Calcium- regulated interaction of Sgtl with S100A6 (calcyclin)and other S100 proteins[J].J Biol Chem,2003;278(29):26923-26928.

[12] Alejandra T,Stephen EM.Calcium-and cell cycle-dependent association of annexin11 with the nuclear envelope [J].J Biol Chem,2003;278(22):20210-20216.

[13] Stradal TB,Gimona M.Ca^{2+} -dependent association of S100A6 (Calcyclin) with the plasma membrane and the nuclear envelope[J].J Biol Chem,1999;274(44):31593-31596.

[14] Ilg EC,Schafer BW,Heizmann CW.Expression pattern of S100 calcium-binding proteins in human tumors[J].Int J Cancer,1996;68(3):325-332.

[15] Weterman MA,Stoopen GM,van Muijen GN,et al.Expressio of calcyclin in human melanoma cell lines correlates with metastatic behavior in nude mice[J].Cancer Res,1992;52(5):1291-1296.

[16] Maelandsmo GM,Florenes VA,Mellingsaeter T, et al. Differential expression patterns of S100A2,S100A4 and S100A6 during progression of human malignant melanoma[J].Int J Cancer,1997; 74:464-469.

[17] Vimalachandran D,Greenhalf W,Thompson C,et al.High nuclear S100A6(Calcyclin) is significantly associated with poor survival in pancreatic cancer patients[J].Cancer Res,2005;65(8):3218-3225.

[18] Kenoki Ohuchida,Kazuhiro Mizumoto,Nami Ishikawa,et al.The role of S100A6 in pancreatic cancer development and its clinlic implication as a diagnostic marker and therapeutic target[J].Clin Cancer Res,2005;11(21):7785-7793.

[19] Breen EC,Tang K.Calcyclin (S100A6) regulates pulmonary fibroblast proliferation,morphology,and cytoskeletal organization in vitro [J].J Cell Biochem,2003;88:848-854.

[20] Tonini GP,Casalaro A,Cara A,et al.Inducible expression of calcyclin, a gene with strong homology to S-100 protein, during neuroblastoma cell differentiation and its prevalent expression in Schwann-like cell line[J].Cancer Res,1991;51:1733-1737.

[21] Luu H H,Zhou L,Haydon R C,et al. Increased expression of S100A6 is associated with decreased metastasis and inhibition of cell migration and anchorage independent growth in human osteosarcoma[J],Cancer Lett,2005;229(1):135-148.

[22] Hsiao LH,Beat WS,Nobuyuki S,et al. Expression analysis of S100 proteins and RAGE in human tumors using tissue microarrays [J].Biophys Res Commun,2003;307:375-381.

(上接第 681 页)

MMP10 在自然流产蜕膜组织中高表达可能是自然流产引起的结果,MMMP10 的高表达有利于蜕膜基质的重塑，为胚胎滋养细胞的侵袭提供适宜的空间,对于阻止流产是有益的。但其确切分子机制尚有待进一步实验研究。MMP10 在自然流产蜕膜中的高表达提示 MMP10 可能将成为治疗自然流产的新靶点。

(通讯作者：何俊琳,023-68485001,E-mail:hejunlin_11@yahoo.com.cn)

参 考 文 献

[1] Chang S,Young BD,Li S,et al.Mapping and partial characterization of proteases expressed by a CHO production cell line[J]. Cell,2006;126(2):321-334.

[2] Montero I,Orbe J,Varo N.C-reactive protein induces matrix metalloproteinase-1 and -10 in human endothelial cells: implications for clinical and subclinical atherosclerosis[J].J Am Coll Cardiol,2006;47(7):1369-1378.

[3] Schnabl B,Hu K,Muhlbauer.Zinc finger protein 267 is up-regulated during the activation process of human hepatic stellate cells and functions as a negative transcriptional regulator of MMP-10[J]. Biochem Biophys Res Commun,2005;335(1):87-96.

[4] Aung PP,Oue N,Mitani Y,et al. Systematic search for gastric cancer-specific genes based on SAGE data:melanoma inhibitory activity and matrix metalloproteinase-10 are novel prognostic factors in patients with gastric cancer[J].Oncogene,2006;25(17):2546-2557.

[5] Gill JH,Kirwan IG,Seargent JM,et al.MMP-10 is overexpressed,proteolytically active,and a potential target for therapeutic intervention in human lung carcinomas [J].Neoplasia,2004;6 (6):777-785.

[6] YANG Guotao,YAN Zhaohua,ZHOU Yuting,et al. Expression of MMP10 and FHIT gene and the clinieopathological signifcance in esophageal cancer[J].Journal of Shandong University(Health Sciences),2005;43(12):1659-1662.

[7] Van Themsche C,Alain T, Kossakowska AE.Stromelysin-2 (matrix metalloproteinase 10) is inducible in lymphoma cells and accelerates the growth of lymphoid tumors in vivo[J].J Immunol,2004;173(6):3605-3611.

[8] LaFramboise WA,Bombach KL,Pogozelski AR,et al.Hepatic gene expression response to acute indomethacin exposure [J].Mol Diagn Ther,2006;10(3):187-196.