

ARL2在肿瘤发生发展中作用的研究进展

Research progress on the role of ARL2 in the development of tumor

王昱霖^{1,2}综述;仇波¹,程鹏¹审阅(1.中国医科大学附属第一医院 神经外科,辽宁 沈阳 110000;2.汕头大学医学院第一附属医院 神经外科,广东 汕头 515000)

[摘要] ADP-核糖基化样因子2(ADP ribosylation factor-like protein 2, ARL2)是一种小型GTP结合蛋白,隶属于RAS超家族中的ARF家族,广泛存在于真核细胞中,在分子结构上高度保守。ARL2参与调节微管动力学,维持细胞形态和极性;调控线粒体功能,包括线粒体形态、运动和线粒体融合等。多种肿瘤中存在ARL2表达异常,并且改变肿瘤细胞中ARL2表达会影响肿瘤细胞的形态、增殖和侵袭能力,影响肿瘤细胞对化疗药物的敏感性、细胞周期分布,甚至诱导细胞凋亡。本文拟对ARL2的目前研究现状及其在肿瘤中的研究进展作一综述。

[关键词] ARL2; 肿瘤; 生物学特征; 微管; 信号通路

[中图分类号] R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)06-0652-04

ADP-核糖基化样因子2(ADP ribosylation factor-like protein 2, ARL2)作为一种小型GTP结合蛋白,相对分子质量20 800,是ARF(ADP-ribosylation factor)家族中ARL成员^[1]。ARL2几乎表达于所有的哺乳动物组织中,在神经组织中含量最高^[2-3]。ARL2在细胞质中以ARL2-GDP的形式与微管蛋白辅助因子D(tubulin cofactor D, TBCD)结合,调节微管动力学^[4]。ARL2-GTP与ARL2结合因子(BART)形成复合物进入线粒体^[5],维持线粒体形态、运动、ATP水平和线粒体融合^[5-6]。在肿瘤中,ARL2扮演着癌基因或抑癌基因的角色,成为治疗的靶点。在肝细胞癌中,ARL2明显上调,并且与患者预后相关^[7];在宫颈癌中,ARL2表达高于癌旁组织,沉默ARL2能抑制宫颈癌细胞的增殖和侵袭^[8];而在乳腺癌中,ARL2过表达能降低乳腺癌细胞的侵袭性,提高肿瘤的化疗敏感性,促进细胞凋亡^[9-10],说明对于乳腺癌ARL2是抑癌基因。作为ARL家族中的代表成员,ARL2的研究取得了一定进展,但有很多功能仍不清楚。本文拟对ARL2的研究现状及其在肿瘤中作用的研究进展作一综述。

1 ARL2的结构特点和功能

ARL2在真核生物中高度保守,结构上具有紧密的同源性,例如黑腹果蝇(80%同一性)和秀丽隐杆线虫(60%同一性)^[2-3]。ARL2与ARF在三维结构上具有RAS超家族蛋白的原始结构,即5个 α 螺旋包围着6股 β 折叠^[11-13]。但与ARF不同的是,ARL2的N端螺旋结构可能更加灵活,螺旋结构的暴露不依赖于GDP和GTP的结合状态,均可与细胞膜相互结合^[14]。同时ARL2的N端也存在ARF蛋白的甘氨酸豆蔻酰

化的位点,但它并不表现出豆蔻酰化^[11, 15],因此ARL2不能像ARF蛋白那样激活磷脂酶D和霍乱毒素^[16]。这些生物化学和遗传学数据表明,ARL2具有很多独特的生物学功能。

ARL2作为一种GTP酶,能快速的结合GTP或GDP分子,不依赖于脂质和去垢剂的帮助^[2],在与GTP或GDP结合的不同状态下发挥不同的功能。BHAMIDIPATI等^[4]证实,在培养的细胞中,过度表达TBCD会导致微管蛋白异二聚体和微管的破坏,而ARL2以ARL2-GDP的形式与TBCD结合,阻止其对微管蛋白和微管的破坏,保护微管的完整性。鉴于ARL2与微管的密切关系,应用诺考达唑处理CHO细胞破坏微管,发现ARL2仍存在于中心体,不依赖于微管,说明ARL2参与维持中心体的完整性^[17]。细胞质中约有10%的ARL2位于线粒体中。ARL2-GTP与BART(ARL2 binding protein)以高亲和力结合进入线粒体,调节线粒体的形态、运动和线粒体融合等^[5-6, 18]。此外,ARL2能增强BART与STAT3的相互作用,促进STAT3核转位^[19]。

2 ARL2在肿瘤发生发展中的作用

鉴于上述的生物学功能,改变ARL2在肿瘤中的

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.30901781)。Project supported by the Natural Science Foundation of China(No.30901781)

[作者简介] 王昱霖(1984-),男,博士,主治医师,主要从事胶质瘤的基础和临床研究,E-mail:docwyl@163.com

[通信作者] 程鹏(CHENG Peng, corresponding author),博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事胶质瘤的基础与临床研究,E-mail:chengpengcmu@sina.com

含量,会影响肿瘤细胞的表型,实现抗肿瘤的目的。

2.1 ARL2通过miR-214抑制人结肠癌细胞的增殖

miR-214与多种肿瘤相关^[20-22],其中包括结肠癌。与正常结肠组织相比,结肠癌中miR-214表达下调,过表达miR-214抑制肿瘤细胞克隆形成、增殖,诱导凋亡。LONG等^[20]通过荧光素酶报告证实miR-214通过与ARL2 3'未翻译区结合调控ARL2表达,Western blotting和qPCR也证实miR-214抑制ARL2的蛋白和mRNA表达,与ARL2 siRNA作用相似。这些结果表明miR-214通过ARL2的3'UTRs直接负调控ARL2,抑制结肠癌细胞生长,促进肿瘤细胞凋亡。

2.2 ARL2通过miR-214影响宫颈癌的发展进程

宫颈癌是一种常见的妇科肿瘤。有研究^[8]表明,miR-214以ARL2为靶点抑制宫颈癌细胞增殖和侵袭能力。在宫颈癌组织中,ARL2的表达明显高于癌旁组织;沉默ARL2能抑制宫颈癌细胞的增殖和侵袭。这表明ARL2可能成为宫颈癌的治疗靶点。

2.3 ARL2对肝癌的影响

肝细胞癌具有明显的异质性。HASS等^[7]应用DNA微阵列技术检测肝细胞癌和非瘤组织中的差异表达基因,发现了众多在肝细胞癌中高表达的基因,它们分别参与不同的生物学功能,包括细胞骨架结构、细胞周期调节、DNA复制、G蛋白信号转导等。在G蛋白信号相关的7个基因中,包含ARL2和其RAS超家族成员RND3(属于Rho家族)。这些明显高表达的基因可能与肝细胞癌的预后有关,对研究肝细胞癌进展起到重要的作用。

2.4 ARL2对胰腺癌的影响

TANIUCHI等^[23]证实,在胰腺癌细胞中,ARL2-GTP通过诱导肌动蛋白细胞骨架重排抑制RhoA活性,降低RhoA活性能促进胰腺癌细胞侵袭。而BART能与ARL2-GTP结合抑制ARL2的功能,减少肌动蛋白细胞骨架的重排,增加胰腺癌细胞中活性RhoA的含量,进而抑制肿瘤细胞的侵袭性。

2.5 ARL2含量变化对乳腺癌的影响

2.5.1 ARL2影响乳腺癌细胞p53的定位和化疗敏感性 存在于细胞质中的ARL2与TBCD和蛋白磷酸酶2A(PP2A)形成复合体^[24]。PP2A是一种重要的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶,参与调节细胞生长、细胞周期、凋亡等多种细胞生命过程,被认为是一种肿瘤抑制蛋白^[25-26]。BEGHIN等^[27]发现,高表达ARL2的乳腺癌细胞中蛋白磷酸酶PP2A催化亚单位(PP2Ac)含量明显升高,低表达ARL2乳腺癌细胞中PP2Ac含量明显下降,而这两组细胞中PP2Ac mRNA水平与对照组没有差异,这说明ARL2可能通过翻译或翻译后的机制影响PP2Ac的含量。PP2A在不同的位点例如

丝氨酸15和丝氨酸37使p53去磷酸化,调节p53活性^[28]。ARL2能通过PP2A影响p53的磷酸化状态。BEGHIN等^[10]应用化疗药物紫杉醇、长春瑞滨和吉西他滨处理不同ARL2含量的乳腺癌细胞,发现高表达ARL2的乳腺癌细胞凋亡指数较高,而低表达ARL2的细胞凋亡指数低于对照组,表明增加乳腺癌细胞中ARL2的含量能提高化疗药物的敏感性,反之降低ARL2的含量增加了乳腺癌细胞的耐药性。降低ARL2含量促进PP2A对p53丝氨酸15位点的磷酸化,磷酸化的p53更容易结合到微管上,减弱了化疗药物促进p53的核转位作用,因此降低了乳腺癌细胞对化疗药物的敏感性。

2.5.2 ARL2调节乳腺癌细胞侵袭性

BEGHIN等^[9]报道ARL2是乳腺癌细胞侵袭能力的重要调节因子,相差显微镜观察不同ARL2含量的乳腺癌细胞发现低表达ARL2的细胞在其生长空间内呈现不均匀分布,一些区域内细胞密度增高,多层分布;高表达ARL2的细胞和对照组细胞均匀生长,在生长空间内单层分布,表明低表达ARL2的细胞失去了接触抑制。在增殖率方面,高表达ARL2的细胞低于对照组和低表达组,而低表达ARL2的细胞和对照组起初并没有明显差异,但在细胞培养5d后,低表达ARL2的细胞增殖率明显升高。应用PP2A抑制剂斑蝥酸处理后,高表达ARL2的细胞增长率明显增加,说明增殖率与PP2A的活性有关。在联合免疫缺陷鼠体内成瘤实验中,低表达ARL2的细胞增长率明显高于对照组,而高表达ARL2的细胞增长率明显下降。通过分析38例原发性乳腺癌患者,发现所有肿瘤体积大且伴有淋巴结转移的样本均低表达ARL2,表明ARL2含量低的乳腺癌细胞具有更强的侵袭性。

3 ARL2在肿瘤中的作用机制

ARL2能促进宫颈癌和胰腺癌细胞的增殖和侵袭,但抑制乳腺癌细胞的进展,促进凋亡、增强化疗敏感性。ARL2在肿瘤中扮演癌基因或抑癌基因的角色,干预ARL2的功能会实现抗肿瘤的目的,但具体作用机制并不十分清楚。结合ARL2的作用功能,分析其可能通过以下几个方面调控肿瘤的生物功能:(1)微管:微管作为细胞骨架参与有丝分裂,维持细胞形态,并且多种化疗药物如紫杉醇等都是以微管为靶点发挥抗肿瘤作用。作为微管合成过程中的核心分子,改变ARL2的含量影响微管动力学、细胞周期,以及化疗药物敏感性,实现抗肿瘤的目的^[9,27]。(2)线粒体:在肿瘤进展过程中,线粒体也有着不容小觑的作用,不仅参与肿瘤的发生、转移,而且还影响对药物的抗性,成为治疗肿瘤的靶点^[29-31]。如前所

述, ARL2 调控线粒体融合、降低 ARL2 含量导致线粒体功能失调^[5]。在膀胱癌中, 敲低 ARL2 导致 ATP 产量和线粒体膜电位下降, 并且抑制细胞生长活性, 说明 ARL2 下调抑制膀胱癌细胞的线粒体功能^[32]。(3) 参与信号通路转导: ARL2 和 ARL3 都能够与磷酸二酯酶 δ (PDE δ) 结合, 调控法尼基化物质如 KRAS 的转运, 使 KRAS 在细胞内膜聚集, 参与下游信号通路转导^[33-34]。有研究^[35]显示, 多种肿瘤中存在 RAS 突变或过度激活, 例如 KRAS-4B 出现在大约 21% 的人类肿瘤中。此外, ARL2 能增强 BART 与 STAT3 相互作用, 促进 STAT3 核转位和转录活性^[19]。鉴于 RAS 和 STAT3 在肿瘤中的重要地位, ARL2 可能通过 RAS 和 STAT3 信号通路影响肿瘤细胞的表型。(4) GTP 酶激活蛋白 (GAP): GAP 是 GTP 酶激活蛋白, 能够与 GTP 结合状态的 RAS 超家族蛋白结合, 加速 GTP 水解, 影响下游信号通路^[36]。ELMOD2 是 ARL2 的一种 GAP, 在线粒体中 ARL2 需要 ELMOD2 的参与来调节线粒体融合和运动^[37]。目前, 多种 RAS GAPs 如 NF1、DAB2IP 和抑制 GAP 活性的小分子抑制剂如 CCG-63802 等已展开深入研究, 通过阻断 RAS 信号通路来抑制肿瘤^[38-39]。相信不久的将来, ARL2 GAPs 也可能成为肿瘤治疗的靶点。

4 结 语

ARL2 作为一种小 GTP 酶, 可与 TBCD、BART 等效应分子结合, 调节微管动力学和有丝分裂, 维持线粒体的形态和运动, 参与 STAT3 信号通路等。在肿瘤中, ARL2 的含量改变影响肿瘤的增殖和侵袭能力、细胞周期分布, 以及对化疗药物的敏感性。基于细胞信号转导途径和线粒体在细胞中的重要作用, 探寻 ARL2 的效应分子、在线粒体中的具体功能以及其参与转导的信号通路将成为今后研究的热点和趋势。

[参 考 文 献]

- [1] GILLINGHAM A K, MUNRO S. The small G proteins of the Arf family and their regulators[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23(6): 579-611. DOI:10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123209.
- [2] CLARK J, MOORE L, KRASINSKAS A, et al. Selective amplification of additional members of the ADP-ribosylation factor (ARF) family: cloning of additional human and drosophila ARF-like genes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90(19): 8952-8956.
- [3] SHARER J D, SHERN J F, VAN VALKENBURGH H, et al. ARL2 and BART enter mitochondria and bind the adenine nucleotide transporter[J]. *Mol Biol Cell*, 2002, 13(1): 71-83. DOI: 10.1091/mbc.01-05-0245.
- [4] BHAMIDIPATI A, LEWIS S A, COWAN N J. ADP ribosylation factor-like protein 2 (Arl2) regulates the interaction of tubulin-folding cofactor D with native tubulin[J]. *J Cell Biol*, 2000, 149(5): 1087-1096.
- [5] NEWMAN L E, ZHOU C J, MUDIGONDA S, et al. The ARL2-GTPase is required for mitochondrial morphology, motility, and maintenance of ATP levels[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99270[2018-01-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4050054/>. DOI:10.1371/journal.pone.0099270.
- [6] NEWMAN L E, SCHIAVON C R, TURN R E, et al. The ARL2 GTPase regulates mitochondrial fusion from the intermembrane space [J/OL]. *Cell Logist*, 2017, 7(3): e1340104[2018-01-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5381910/>. DOI: 10.1080/21592799.2017.1340104.
- [7] HASS H G, VOGEL U, SCHEURLEN M, et al. Gene-expression analysis identifies specific patterns of dysregulated molecular pathways and genetic subgroups of human hepatocellular carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(10): 5087-5095. DOI: 10.21873/anticancer.11078.
- [8] PENG R, MEN J, MA R, et al. miR-214 down-regulates ARL2 and suppresses growth and invasion of cervical cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 484(3): 623-630. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.01.152.
- [9] BEGHIN A, BELIN S, HAGE-SLEIMAN R, et al. ADP ribosylation factor like 2 (Arl2) regulates breast tumor aggressivity in immunodeficient mice[J/OL]. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7478[2018-01-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC0007478/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0007478.
- [10] BEGHIN A, MATERA E L, BRUNET-MANQUAT S, et al. Expression of Arl2 is associated with p53 localization and chemosensitivity in a breast cancer cell line[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(19): 3074-3082. DOI: 10.4161/cc.7.19.6777.
- [11] AMOR J C, HORTON J R, ZHU X, et al. Structures of yeast ARF2 and ARL1: distinct roles for the N terminus in the structure and function of ARF family GTPases[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(45): 42477-42484. DOI:10.1074/jbc.M106660200.
- [12] ISMAIL S A, CHEN Y X, RUSINOVA A, et al. Arl2-GTP and Arl3-GTP regulate a GDI-like transport system for farnesylated cargo[J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 942-949. DOI: 10.1038/nchembio.686.
- [13] HILLIG R C, HANZAL-BAYER M, LINARI M, et al. Structural and biochemical properties show ARL3-GDP as a distinct GTP binding protein[J]. *Structure*, 2000, 8(12): 1239-1245.
- [14] KAPOOR S, FANSA E K, MOBITZ S, et al. Effect of the N-terminal helix and nucleotide loading on the membrane and effector binding of Arl2/3[J]. *Biophys J*, 2015, 109(8): 1619-1629. DOI:10.1016/j.bpj.2015.08.033.
- [15] BOLOGNA G, YVON C, DUVAUD S, et al. N-Terminal myristoylation predictions by ensembles of neural networks[J]. *Proteomics*, 2004, 4(6): 1626-1632. DOI:10.1002/pmic.200300783.
- [16] HONG J X, LEE F J, PATTON W A, et al. Phospholipid- and GTP-dependent activation of cholera toxin and phospholipase D by human ADP-ribosylation factor-like protein 1 (HARL1) [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(25): 15872-15876.
- [17] ZHOU C, CUNNINGHAM L, MARCUS A I, et al. Arl2 and Arl3 regulate different microtubule-dependent processes[J]. *Mol Biol Cell*, 2006, 17(5): 2476-2487. DOI:10.1091/mbc.E05-10-0929.

- [18] SHARER J D, KAHN R A. The ARF-like 2 (ARL2)-binding protein, BART. Purification, cloning, and initial characterization[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(39): 27553-27561.
- [19] MUROMOTO R, SEKINE Y, IMOTO S, et al. BART is essential for nuclear retention of STAT3[J]. *Int Immunol*, 2008, 20(3): 395-403. DOI:10.1093/intimm/dxm154.
- [20] LONG L M, HE B F, HUANG G Q, et al. MicroRNA-214 functions as a tumor suppressor in human colon cancer via the suppression of ADP-ribosylation factor-like protein 2[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(2): 645-650. DOI:10.3892/ol.2014.2746.
- [21] YU G, WANG J, XU K, et al. Dynamic regulation of uncoupling protein 2 expression by microRNA-214 in hepatocellular carcinoma [J/OL]. *Biosci Rep*, 2016, 36(3): e00335[2018-01-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5293557/>. DOI: 10.1042/bsr20160062.
- [22] LIU B, TIAN Y, LI F, et al. Tumor-suppressing roles of miR-214 and miR-218 in breast cancer[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(6): 3178-3184. DOI:10.3892/or.2016.4749.
- [23] TANIUCHI K, IWASAKI S, SAIBARA T. BART inhibits pancreatic cancer cell invasion by inhibiting ARL2-mediated RhoA inactivation[J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(5): 1243-1252. DOI: 10.3892/ijo.2011.1156.
- [24] SHERN J F, SHARER J D, PALLAS D C, et al. Cytosolic Arl2 is complexed with cofactor D and protein phosphatase 2A[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(42): 40829-40836. DOI: 10.1074/jbc.M308678200.
- [25] KAUKO O, WESTERMARCK J. Non-genomic mechanisms of Protein Phosphatase 2A (PP2A) regulation in cancer[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018. DOI:10.1016/j.biocel.2018.01.005.
- [26] MEEUSEN B, JANSSENS V. Tumor suppressive protein phosphatases in human cancer: Emerging targets for therapeutic intervention and tumor stratification[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 49(8): 403-404. DOI: 10.5483/BMBRep.2016.49.8.112.
- [27] BEGHIN A, HONORE S, MESSANA C, et al. ADP ribosylation factor like 2 (Arl2) protein influences microtubule dynamics in breast cancer cells[J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(3): 473-485. DOI: 10.1016/j.yexcr.2006.10.024.
- [28] RUVOLO P P. The broken "Off" switch in cancer signaling: PP2A as a regulator of tumorigenesis, drug resistance, and immune surveillance[J]. *BBA Clin*, 2016, 6(2): 87-99. DOI: 10.1016/j.bbacli.2016.08.002.
- [29] ZHANG X Y, ZHANG P Y. Mitochondria targeting nano agents in cancer therapeutics[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(6): 4887-4890. DOI: 10.3892/ol.2016.5302.
- [30] GUERRA F, GUARAGNELLA N, ARBINI A A, et al. Mitochondrial Dysfunction: a novel potential driver of epithelial-to-mesenchymal transition in cancer[J]. *Front Oncol*, 2017, 7(4): 295-301. DOI: 10.3389/fonc.2017.00295.
- [31] VYAS S, ZAGANJOR E, HAIGIS M C. Mitochondria and cancer [J]. *Cell*, 2016, 166(3): 555-566. DOI:10.1016/j.cell.2016.07.002.
- [32] LI H J, SUN X M, LI Z K, et al. LncRNA UCA1 Promotes mitochondrial function of bladder cancer via the mir-195/ar12 signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(6): 2548-2561. DOI: 10.1159/000484507.
- [33] FRANCIS J W, TURN R E, NEWMAN L E, et al. Higher order signaling: ARL2 as regulator of both mitochondrial fusion and microtubule dynamics allows integration of 2 essential cell functions[J]. *Small GTPases*, 2016, 7(4): 188-196. DOI: 10.1080/21541248.2016.1211069.
- [34] SCHMICK M, VARTAK N, PAPKE B, et al. KRas localizes to the plasma membrane by spatial cycles of solubilization, trapping and vesicular transport[J]. *Cell*, 2014, 157(2): 459-471. DOI:10.1016/j.cell.2014.02.051.
- [35] ZHANG F, CHEONG J K. The renewed battle against RAS-mutant cancers[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(9): 1845-1858. DOI: 10.1007/s00018-016-2155-8.
- [36] IVANOVA A A, EAST M P, YI S L, et al. Characterization of recombinant ELMOD (cell engulfment and motility domain) proteins as GTPase-activating proteins (GAPs) for ARF family GTPases[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(16): 11111-11121. DOI: 10.1074/jbc.M114.548529.
- [37] NEWMAN L E, SCHIAVON C R, ZHOU C, et al. The abundance of the ARL2 GTPase and its GAP, ELMOD2, at mitochondria are modulated by the fusogenic activity of mitofusins and stressors[J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0175164. DOI:10.1371/journal.pone.0175164.
- [38] MAERTENS O, CICHOWSKI K. An expanding role for RAS GTPase activating proteins (RAS GAPs) in cancer[J]. *Adv Biol Regul*, 2014, 55(1): 1-14. DOI:10.1016/j.jbior.2014.04.002.
- [39] SJOGREN B. The evolution of regulators of G protein signalling proteins as drug targets-20 years in the making: IUPHAR Review 21[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(6): 427-437. DOI: 10.1111/bph.13716.

[收稿日期] 2018-01-18

[修回日期] 2018-04-11

[本文编辑] 王映红