

基因可变剪接在癌症发生和治疗中的研究进展

Advances in the study of gene alternative splicing in the development and treatment of cancer

李晓亚 综述;单保恩,赵连梅 审阅(河北医科大学第四医院 科研中心,河北 石家庄 050011)

[摘要] 可变剪接指从单个基因产生多种 mRNA 同种型,是转录后调控的重要方式之一。可变剪接不仅影响人体正常生长发育过程,而且在包括癌症在内的多种疾病发生发展中扮演重要角色。癌组织的剪接变化通常是全局的而不是基因特异性的,异常的剪接模式控制癌症的主要特征。遗传、表观遗传、剪接因子网络差异表达及选择性转录起始或终止等多种途径巩固了特定促癌或抑癌同种型的优势表达,进而影响癌症进程。此外,近年来研究,证明呈组织或阶段特异性表达的剪接同种型有作为癌症生物标志物及治疗靶标的潜能。本文通过全局剪接变化影响肿瘤进展、可变剪接影响癌症进展的途径及可变剪接提示癌症监控和治疗新策略 3 个方面进行综述。

[关键词] 可变剪接;剪接同种型;癌症;生物标志物;治疗靶标

[中图分类号] R739.2; R392.13 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)09-1042-07

20 世纪 50 年代末至 60 年代初,遗传翻译代码在细菌中被破译。连续的基因序列被转录为 mRNA,随后翻译为蛋白质,发挥相应生物学功能。多年来,没有人想到基因可能是不连续的。1977 年美、英两国科学家 Philip Sharp 和 Richard Roberts 同时发现真核生物基因内有一部分碱基顺序并不表现在其所控制的氨基酸序列顺序上,但是成熟 mRNA 碱基顺序与其翻译的氨基酸序列顺序呈相对线性。原来,基因转录形成 Primary mRNA,其部分序列被切除,余下部分重新衔接起来,成为成熟的 mRNA,这个加工过程被定义为剪接(splicing)。其中被切除的 RNA 部分不表现为氨基酸序列,称为介入序列或内含子(intron),余下部分则称为外显子(exon)。因此真核基因是分裂而不连续的,它是由内含子和外显子相间排列而成,因此获称断裂基因。1993 年,Philip Sharp 和 Richard Roberts 共同获得诺贝尔生理学 and 医学奖。

20 世纪 80 年代早期发现,剪接过程中外显子的选择存在变异,可以从一个 Pre-mRNA 产生多种 mRNA 同种型^[1],这种现象被命名为选择性剪接/可变剪接(alternative splicing; AS)。这是一种与组成性剪接截然不同的 Pre-mRNA 加工过程,其通过包含或排除 Pre-mRNA 中的不同外显子部分或内含子部分,负责从单个基因产生多种 mRNA 同种型。这些 mRNA 将翻译为功能不同或相近的蛋白质同种型,或作为非编码转录物存在。目前,主流观点认为 AS 通过从单个基因产生多种蛋白质而大大丰富了蛋白质组结构和功能多样性。有研究^[2-5]显示,超过 90% 的人类

基因经历 AS 事件,转录组学数据远比基因组学庞大的多。越来越多的 mRNA 同种型功能被表征提示其不作为“转录噪音”存在,而是调控生物功能的重要分子。

研究^[6-7]发现,AS 不仅在人体发育过程中调控特定基因的组织特异性、阶段特异性表达,对于正常的生物过程如造血^[8]、脑发育^[9]和肌肉功能^[10]至关重要;而且在包括癌症在内的多种疾病的发生、发展过程扮演重要角色。越来越多的证据表明,异常 AS 引发对癌症主要特征的控制,包括细胞增殖^[11]、凋亡^[12]、上皮-间质转化^[13]及肿瘤侵袭和转移^[14-15],响应缺氧等外界环境变化^[16]等,从而促进细胞恶性转化并赋予其生存优势。本文重点关注癌症中 AS 的功能角色和作用途径。

1 全局剪接变化影响肿瘤进展

癌症转录组分析数据表明,癌组织的剪接变化通常是全局的而不是基因特异性的。研究^[17-19]报道,

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81772550,81673642)。Project supported by National Natural Science Foundation of China (No.81772550,81673642)

[作者简介] 李晓亚(1993-),女,硕士生,主要从事肿瘤免疫治疗的研究,E-mail:lixiaoyamed@163.com

[通信作者] 单保恩(SHAN Baoen, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事肿瘤免疫的研究,E-mail:shanbaoen@163.com;赵连梅(ZHAO Lianmei, corresponding author),博士,副研究员,博士生导师,主要从事中药抗肿瘤的研究,E-mail:lianmeizhmail@163.com

与对应正常组织相比, 癌组织发生广泛的剪接变化, 例如外显子包含率的改变和低效的内含子去除。相应的, 许多癌症中存在剪接因子网络的差异表达, 这部分介导了全局剪接变化的发生。例如, 富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子1(SRSF1)在卵巢癌、胃癌、结肠癌、乳腺癌和肺癌等多种人类肿瘤中存在表达上调。体内外实验^[20-21]表明, 该因子的过表达足以使正常细胞发生转化并在小鼠中形成肿瘤。进一步的分析显示, SRSF1的AS靶标不是某个特定基因, 而是涉及多个基因复合变化, 包括抑制PTEN样线粒体磷酸酶(PTPMT1)短同种型生成, 进而抑制AMPK的磷酸化, 阻止DNA双链断裂以抵抗辐射^[22]; 促进包含外显子6的DBF4B同种型生成, 可促进癌细胞增殖并维持基因组稳定性^[23]; 促进MYO1B外显子23和24的包含, 产生促癌全长同种型等多种效应分子, 协同促进肿瘤进展^[24]。

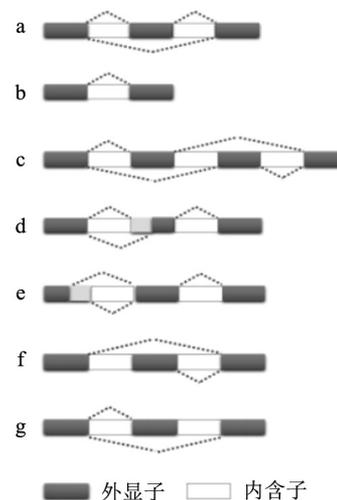
敲降目标剪接因子的表达并进行转录组测序是目前寻找靶mRNA的主要手段。通过分析多种癌细胞的测序数据, 研究^[25-26]发现, 单个剪接因子的表达变化可以引起成百上千个靶mRNA分子的剪接变化。例如, 用过表达剪接因子RBM4的H157细胞进行mRNA-seq, 证实RBM4调节多达473个AS事件, 包括外显子跳跃(exon skipping)、内含子保留(intron retention)、互斥外显子(mutually exclusive exon, MXE)、可变5'剪接位点(alternative 5' splice site, A5SS)、可变3'剪接位点(alternative 3' splice site, A3SS)以及串联UTR(TUTR)等各种类型。对这些AS的靶标进行功能富集, 发现其涉及细胞增殖、伤口愈合、细胞周期及DNA损伤等多个生物过程。进一步研究聚焦于细胞增殖和凋亡途径, 证实RBM4促进BCL-XS促凋亡同种型的产生比率, 并通过拮抗SRSF1降低S6K1致癌同种型导致的mTOR活化, 共同抑制肿瘤生长^[27]。见图1。

2 可变剪接影响癌症进展的途径

2.1 外显子或内含子定义改变

在多细胞动物的全基因组范围上, 外显子-内含子边界处氨基酸使用存在偏好是一种非常普遍的现象。一般认为, 这是由于外显子边界上存在有助于剪接的保守信号序列。研究^[28]发现, 有些内含子剪切时以外显子为剪接识别单位, 称为外显子定义。这些内含子的剪切过程对外显子长度有严格的要求, 并更依赖于外显子中的剪接增强信号; 反之内含子为剪接识别单位称内含子定义, 其剪接过程更依赖于剪接体对内含子3'端和5'端的强剪接位点信号的识别来完成, 而外显子边界氨基酸的使用偏好更弱一些或者

不存在。



a: 外显子跳跃(exon skipping); b: 内含子保留(intron retention); c: 互斥外显子(mutually exclusive exon, MXE); d: 可变5'剪接位点(alternative 5' splice site, A5SS); e: 可变3'剪接位点(alternative 3' splice site, A3SS); f: 选择性转录起始(alternative first exon); g: 选择性转录终止(alternative last exon)

图1 选择性剪接类型

癌组织中广泛存在剪接因子网络的差异表达及顺式作用序列的突变、缺失和表观修饰, 导致剪接体识别外显子或内含子上的剪接位点改变, 发生AS, 进而导致(1)包含-跳跃率的变化;(2)移码和由于无义介导的衰变(NMD)导致的转录物丢失;(3)形成新的剪接变体。反应在蛋白水平, AS的结局有(1)产生空间结构相似的蛋白质, 竞争结合、调控靶分子活性状态;(2)通过控制有效转录本与无效转录本比率, 调节效应基因产物水平;(3)产生新功能蛋白质, 增加蛋白质组多样性。

2.1.1 剪接因子网络差异表达 以研究最为广泛的两个剪接因子家族--丝氨酸/精氨酸蛋白(SRs)和异源核糖核蛋白(hnRNPs)为例来说明。研究^[28]证实, SR通常结合ESE或ISE序列并直接与蛋白质靶标相互作用, 将U1 snRNP募集至5'剪接位点并将U2AF复合体和U2 snRNP募集至3'剪接位点, 从而促进外显子识别; hnRNP主要结合ESS或ISS序列以抑制剪接位点识别。当剪接沉默子靠近剪接位点或剪接增强子时, hnRNPs可在空间上阻断正调节因子进入或阻断激活剂与增强子结合, 从而发挥剪接阻遏作用。因此, 在Pre-mRNA的处理策略上SRps和hnRNPs通常具有相反的调控方向, 提示两者的相对表达水平可以平衡调节AS事件。例如, caspase-2是进化上最保守的半胱天冬酶, 其不仅参与细胞凋亡的启动, 还参与细胞对DNA损伤的反应。caspase-2有两种剪接

同种型:长、促凋亡的 caspase-2L,短、抗凋亡的 caspase-2S。Pre-caspase-2 mRNA 通过包含替代外显子 9 产生短同种型,导致过早的转录终止和短蛋白质的合成。Caspase-2 的 AS 受几种剪接因子的调节。SRSF1 和 SRSF2 增加外显子 9 的跳跃和 caspase-2L 同种型的产生,而 hnRNP A1 促进外显子 9 包含和 caspase-2S 的合成。相比之下,hnRNP 家族的另一成员,PTB 通过与位于替代外显子 9 下游的内含子中的调节元件结合而抑制外显子 9 的包含并促进胱天蛋白酶-2L 的产生。外显子 9 的跳跃也受到 SRSF3 的刺激,SRSF3 与外显子 8 结合并有利于选择近端剪接位点,导致 caspase-2L 的合成^[28]。

hnRNPM 和 ESRP1 是 EMT 过程中 AS 的关键调节因子,两者调节的外显子呈现出显著重叠,并且在大多数共调节事件显示出不一致的调节方向,表明 hnRNPM 和 ESRP1 在很大程度上起到相互拮抗的作用,共调节盒附近基序富含特异 GU 序列也提示两者之间或许存在竞争结合。例如 ESRP1 驱动 CD44 外显子包含而 hnRNPM 促进 CD44 外显子跳跃,后者产生 EMT 所需短 CD44 同种型。其他 EMT 效应分子如 EXOC7 和 TCF7L2 等呈现出相同的剪接模式,即 ESRP1 促进上皮同种型的产生,而 hnRNPM 促进间充质同种型的产生^[29]。深入分析 hnRNPM 和 ESRP1 剪接调控机制,了解剪接因子竞争或协作精确调节 AS,突出了癌症相关剪接程序中对剪接因子结合和功能动态的重要性。

2.1.2 顺式作用序列及剪接因子的突变或缺失 根据顺式调控元件的位置和功能,可将其分为 4 类:外显子剪接增强子(exon splicing enhancer, ESE)、外显子剪接沉默子(exon splicing silencer, ESS)、内含子剪接增强子(intron splicing enhancer, ISE)和内含子剪接沉默子(intron splicing silencer, ISS)。顺式作用序列的突变、缺失以及被剪接基因内单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)等遗传背景通过影响剪接因子的结合位置或活性以及剪接位点的识别能力等多种机制,影响内含子或外显子的包含或跳跃,从而产生不同的剪接同种型。例如,由 MYLK 基因编码的非肌肉(nm)肌球蛋白轻链激酶(MLCK)是调节血管屏障对机械和炎症刺激反应的重要参与者。已证明 MYLK 被可变剪接,受其剪接位点处 SNP 的影响产生不同的 nmMLCK 同种型:rs77323602 减少外显子跳跃并更大机率的产生外显子包含,导致野生型 nmMLCK1 的表达增加;rs147245669 增加外显子跳跃,导致增加的 nmMLCK2(较 nmMLCK1 缺少外显子 11)表达。研究^[30]发现,外显子 11 处的剪接供体位点较弱,仅有 7 个残

基与共有序列匹配,SNP rs77323602 的存在使供体位点恢复到共有序列,增强了剪接位点识别,促进外显子 11 包含,生成野生型 nmMLCK1。此外 SNP rs77323602 可能增加 MYLK mRNA 的半衰期,产生更好的翻译效率。

剪接因子突变也对剪接模式产生影响,进而影响癌症进展。如 RBM10 是肺腺癌中最常见的突变基因之一。野生型 RBM10 负责调控 NUMB 的可变剪接,即促进外显子 9 跳跃,从而产生 Notch 信号通路的有效负调控因子,抑制细胞增殖;突变型 RBM10 破坏其作为 NUMB 选择性剪接调节剂的功能,而不影响其 RRM2 基序与 RNA 的结合。突变型 RBM10 保证了包含外显子 9 的 NUMB 同种型(促增殖同种型)在肺腺癌中的优势地位,对于肺腺癌的进展至关重要^[31]。

2.1.3 表观修饰 目前 AS 研究集中在由剪接体机制介导的转录后调控。然而,有证据^[32]表明,AS 是一个共转录剪接过程,不仅受剪接因子控制,还受表观遗传机制调控,如染色质结构,核小体密度和组蛋白修饰等多种因素均会对剪接模式造成影响。例如组蛋白修饰可以通过影响 RNA 聚合酶 II(PolII)的转录延伸效率来调节 AS^[33]。以组蛋白 H3K36 甲基转移酶(SETD2)为例,SETD2 是哺乳动物细胞中催化组蛋白 3 上赖氨酸 36 三甲基化(H3K36me3)的主要酶类,通常促进基因转录。在人结肠直肠癌 HCT116 细胞中敲降 SETD2, DVL2 内含子 2 的包含率降低并且显示出更少的 H3K36me3 修饰。使用针对总 Pol II 和 Ser2-磷酸化 Pol II 的特异性抗体进行 ChIP-qPCR 分析, DVL2 的第 2 个内含子区域占据了更多的总 Pol II 及延伸形式的 Pol II,提示该位置存在 Pol II 延伸的暂停,可能有助于内含子 2 的去除。有趣的是 DVL2 内含子 2 中携带过早终止密码子,可引发无义介导的 mRNA 衰变(NMD),导致 mRNA 水平降低。敲降 SETD2 通过改变 DVL2 基因座内组蛋白修饰状态,显著增加了 DVL2 mRNA 的表达水平,从而增强 Wnt/ β -连环蛋白信号传导,促进结肠直肠癌进展^[34]。

2.2 选择性转录起始或终止

可变启动子定义为同一基因上可招募 RNA 聚合酶 II(RNA polymerase, PolII)的多个功能区域,产生具有不同非重叠第一外显子的 Pre-mRNA。对于一些在给定的启动子/第一外显子内存在多个转录起始位点的基因,转录本中可观察到重叠的第一外显子,所以这些事件并不属于可变启动子事件,因为它们的调控启动子(转录起始位点的-1 000~+500 bp)保持相同。同样地,将 Pre-mRNA 以不同的非重叠的最后一个外显子结束定义为可变转录终止事件。见图 1。

虽然多数文献将可变启动子和可变转录终止归属于可变剪接事件,但两者确有不同。当可变启动子/转录终止发挥作用时,由于产生多个 Pre-mRNA 而产生剪接同种型;而可变剪接通过调控单个 Pre-mRNA 的剪接模式产生剪接同种型。

同样的,选择性转录起始或终止受遗传和表观遗传因素共同调控。启动子区域组蛋白修饰状态和位于启动子内或基因间 CpG 岛的甲基化模式等因素均会对可变启动子的活性及相应剪接同种型的表达产生影响。例如,印记 H13 基因座中 CpG 岛对应位于内含子的 Mcts2 基因的启动子仅在母本等位基因上被甲基化。该 CpG 岛的甲基化导致使用下游转录终止和聚腺苷酸化信号,从而产生全长转录物;而 CpG 岛处于去甲基化状态时,利用上游终止和聚腺苷酸化信号从而产生截短的转录物^[35]。

探究可变转录起始/终止的发生机制对于癌症监测和治疗同样意义深远。据报道,通过启动子区域表观遗传调控的改变利用备选转录起始位点导致免疫原性 N-末端肽的表达降低,这可能促进早期胃癌中的免疫逃避。一项小队列研究^[36]证实,具有高可变启动子利用率的转移性胃癌组织中,细胞毒性 T 细胞的活性明显降低,对于抗 PD1 免疫检查点治疗反应性明显降低,而且出现响应延迟的肿瘤组织在抗 PD1 治疗后表现出升高的可变启动子利用率,提示可变启动子利用率可能是有潜力的预测免疫疗法反应性的新型标志物。此外,有证据^[37]显示,Pre-mRNA 可变转录与剪接相耦合共同发挥调控作用,如在具有可变启动子的基因中可变转录终止和剪接的发生率更高,并且可变启动子和转录终止的选择可以影响 Pre-mRNA 的 AS 模式。

3 可变剪接提示癌症监控和治疗新策略

正如前文中所讨论的那样,遗传、表观遗传、剪接因子网络差异表达等诸多因素严格把控癌症中的 AS 事件,使得肿瘤组织中出现特异性差异表达的剪接因子或剪接同种型。这些效应分子往往在肿瘤增殖、侵袭、凋亡抵抗、免疫逃逸等生物学过程中发挥重要作用,可用于早期诊断、预后监测及提供精准靶向治疗方案,这提示了癌症监控和治疗的新策略。

3.1 剪接同种型作为生物标志物

CCDC50 剪接是肝细胞癌(HCC)中最显著的可变剪接事件之一,产生排除外显子 6 的短剪接变体 CCDC50s 和包含外显子 6 的长剪接变体 CCDC50l 两种同种型,前者在肝癌组织中占据优势。实验^[38]证实,细胞核中 SRSF3 表达减少导致了 CCDC50 外显子 6 的跳跃,而细胞质 SRSR3 表达增加增强

CCDC50S mRNA 的稳定性。酪氨酸磷酸化蛋白 CCDC50S 通过激活 Ras/Foxo4 信号传导促进肝癌细胞生长和转移。除此之外,与肝脏良性肿瘤及几种类型实体瘤相比,CCDC50S mRNA 在 HCC 中上调,具有作为诊断标志物的潜力(敏感性:0.711,特异性:0.793)。CCDC50S mRNA 在 HCC 中的高表达与肿瘤分化差,TNM 分期和预后不良显著相关。总之,这些数据证实 CCDC50S 可以作为肝癌新的诊断和预后生物标志物。

最近在人类结肠直肠癌(CRC)细胞系 HT29 中鉴定了一种排除外显子 2 的新 RON 剪接变体,命名为 RON Δ 165E2。RON 是一种酪氨酸激酶受体,RON Δ 165E2 变体因排除了外显子 2 导致 RON β 链的细胞外结构域中 63 个氨基酸的框内缺失,在胞质中以单链形式存在。RON Δ 165E2 虽然缺乏酪氨酸磷酸化活性,但可磷酸化磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN),从而激活 PI3K/AKT 途径,进而诱导侵袭性表型。在对 67 个临床 CRC 样本的研究中,该变体在约 58% 的样本中高度表达,并且与肿瘤的侵入深度正相关^[39]。这些结果证明 RON Δ 165E2 变体可能是有潜力的 CRC 诊断和进展标志物。

前列腺癌是美国男性癌症相关死亡的第二大原因,虽然许多患者最初对雄激素剥夺疗法(ADT)反应良好,但该疾病通常发展为去势抵抗性前列腺癌(CRPC),其定义为尽管睾酮含量处于阉割水平但疾病仍发生进展。雄激素受体(AR)是在 CRPC 中过度表达和/或过度激活的关键转录调节因子。AR 剪接变体 7(AR-V7)缺乏配体结合结构域(结合雄激素),但具有雄激素非依赖性、连续 AR 转录活性,可以抵抗 ADT 并有助于 CRPC 的进展。雄激素受体拮抗剂恩杂鲁胺和阿比特龙通过靶向 AR 配体结合域发挥抑制前列腺癌进展的作用,所以用于 AR-V7 阳性患者功效降低^[40]。由此看来,AR-V7 可能是有效的 CRPC 治疗生物标志物,即在开始 ADT 之前检测前列腺癌患者中 AR-V7 的表达情况,若其为阳性应尽量排除恩杂鲁胺和阿比特龙治疗。

综上所述,剪接同种型介导许多导致肿瘤进展和转移的关键细胞功能,在癌症发生发展的不同阶段特异性表达,因此具有作为诊断或预后标志物的潜力。并且同一基因的不同剪接产物对化疗药物的反应不一,或可为临床用药提供选择依据。

3.2 剪接同种型作为治疗靶标

Mnk1/2 作为丝氨酸/苏氨酸激酶,是唯一已知的负责真核翻译起始因子 4E(eIF4E)的 209 位丝氨酸磷酸化的激酶。已经在许多癌症中发现了增强的 mRNA 翻译起始。Mnk 蛋白对 eIF4E 的磷酸化增加

了其加帽 mRNA 的亲合力,增加了与肿瘤发生有关的多种 mRNA 的输出和翻译,并促进了 eIF4E 的致癌活性。人 Mnk2 Pre-mRNA 是剪接因子和癌蛋白 SRSF1 的靶标,其经历可变剪接,产生具有不同 C 末端的两种蛋白质。其中较长同种型 Mnk2a 具有 MAPK 结合位点,而较短的同种型 Mnk2b 中不存在结合位点。相应地,Mnk2a 可直接与 p38 α -MAPK 相互作用,诱导其磷酸化并转位到细胞核中,导致其靶基因活化,增加细胞死亡并抑制 Ras 诱导的表型转化。而 Mnk2b 不具有磷酸化 p38-MAPK 的能力,使 eIF4E 磷酸化与 p38-MAPK 应激诱导的反应解耦联,从而促进癌细胞生长和存活。研究^[41]表明,Mnk2a 同种型在乳腺癌,肺癌和结肠肿瘤中下调并且表现出肿瘤抑制特性,证实剪接同种型对癌症表型的调控在不同肿瘤类型中存在共性,暗示操纵可变剪接流向抑癌同种型的新型治疗思路具有深远意义。

SRSF6 在临床结直肠癌样本中普遍被上调,并且其高表达状态与结直肠癌患者的不良预后显著相关。体内外生物学检测均证实 SRSF6 促进结直肠癌细胞的增殖和转移。通过 RNA-seq 鉴定了多个 SRSF6 调节的 AS 事件,而且靶分子功能在细胞黏附分子结合途径中显著富集。研究^[42]证实 SRSF6 促进 ZO-1 (已知细胞连接黏附分子)外显子 23 剪接以增加 ZO-1 外显子 23 跳跃同种型并减少 ZO-1 外显子 23 包含同种型。其中 ZO-1 跳跃同种型似乎在结直肠癌转移过程中不起作用,而 ZO-1 外显子 23 包含同种型的下调部分解释了 SRSF6 促进癌细胞转移机制。因此 SRSF6 可作为抑制结直肠癌转移的潜在用药靶点,然而迄今为止尚未研发出靶向 SR 蛋白的药物。有趣的是,从 4 855 种 FDA 批准药物中筛选 SRSF6 的候选抑制剂,幸运地发现茛达特罗(indacaterol,一种长效 β 2-激动剂),用于治疗 COPD 通过靶向 RRM2 结构域(介导迁移和侵袭表型所必需的结构域)阻断 SRSF6。茛达特罗以剂量依赖的方式抑制体内外结直肠癌细胞的增殖和转移,为结直肠癌联合治疗提供了新的用药选择。

多梳蛋白复合物 PRC2 具有催化组蛋白 H3 的 27 位赖氨酸单、二和三甲基化的甲基转移酶活性,在调节肿瘤转化和进展中发挥重要作用。EZH2 作为 PRC2 的催化亚基,通过甲基化 H3K27 靶向多种肿瘤抑制基因,包括 DAB2IP、HOXA9 等。而剪接因子 SF3B3 通过在肾癌细胞中特异性促进 EZH2 第 14 外显子的包含,使其翻译所得蛋白异构体生成发挥甲基转移酶活性必不可少的 CXC 功能结构域。该蛋白异构体在与截短的 EZH2 蛋白异构体(因 EZH2 pre-mRNA 剪接时跳过 14 外显子而翻译产生的缺失 CXC

结构域的蛋白异构体,与 PRC2 其他功能亚基的亲合力不改变但不具有甲基转移酶活性)的竞争中占据明显优势,从而在体内外促进肾癌细胞的增殖和迁移。总之这些发现表明用于治疗肾癌的合理药物组合可以是 EZH2 抑制剂(例如 EPZ005687)以及 SF3b 抑制剂(例如 spliceostatin A)^[43]。

总之,越来越多的促癌剪接同种型及调控其剪接的反式作用因子被证实为控制癌症进程的行之有效的治疗靶点。但这些实验结论大多建立于细胞和动物实验基础之上,且缺乏具有完整临床数据支持的剪接同种型或剪接因子抑制剂,因此这些研究要惠及临床肿瘤治疗,尚任重道远。

4 展望

在过去的几十年中, RNA 可变剪接驱动癌症进展方面的研究取得了很大突破,两者之间的关系变得越来越清晰。本文从 AS 的发生途径着手分析了其对癌症发生及进展的影响,并综述了多个剪接同种型作为有潜力的肿瘤生物标志物和治疗靶标的研究,提出以剪接同种型为中心的癌症监控和治疗新策略。然而还有许多问题亟待解答,仍然缺乏对癌症相关剪接模式的原因以及是否存在共同特征的充分理解,信号通路与 AS 调节之间的关系也尚不清楚,还有许多问题亟待解答。总之,研究 AS 事件的调节机制并设计 ASO、RNAi 或者小分子抑制剂以恢复正常剪接这一癌症治疗策略对于攻克癌症这一重大命题具有深远意义。

[参考文献]

- [1] KORNBLIHTT A R, VIBE-PEDERSEN K, BARALLE F E, et al. Human fibronectin: molecular cloning evidence for two mRNA species differing by an internal segment coding for a structural domain. [J]. EMBO J, 1984, 3(1): 2075-2079 DOI: 10.1002 / j. 1460-2075.1984.tb01787.x.
- [2] WANG E T, SANDBERG R, LUO S J, et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes[J/OL]. Nature, 2008, 456(7221): 470-476[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2593745/>. DOI:10.1038/nature07509.
- [3] PAL S, GUPTA R, DAVULURI R V. Alternative transcription and alternative splicing in cancer[J]. Pharmacol Ther, 2012, 136(3): 283-294. DOI:10.1016/j.pharmthera.2012.08.005.
- [4] UHLÉN M, FAGERBERG L, HALLSTRÖM B M, et al. Proteomics: Tissue-based map of the human proteome[J]. Science, 2015, 347(6220): 1260419. DOI:10.1126/science.1260419.
- [5] HU Z Q, SCOTT H S, QIN G R, et al. Revealing missing human protein isoforms based on ab initio prediction, RNA-seq and proteomics[J/OL]. Sci Rep, 2015, 5: 10940[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4496727/>. DOI: 10.1038 / srep10940.

- [6] XU Q, MODREK B, LEE C. Genome-wide detection of tissue-specific alternative splicing in the human transcriptome[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(17): 3754-3766[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC137414/>. DOI: 10.1093/nar/gkf492.
- [7] PAN Q, SHAI O, LEE L J, et al. Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing[J]. *Nat Genet*, 2008, 40(12): 1413-1415. DOI: 10.1038/ng.259.
- [8] WONG A C H, RASKO J E J, WONG J J. We skip to work: alternative splicing in normal and malignant myelopoiesis[J]. *Leukemia*, 2018, 32(5): 1081-1093. DOI:10.1038/s41375-018-0021-4.
- [9] MATSUDA T, NAMURA A, OINUMA I. Dynamic spatiotemporal patterns of alternative splicing of an F-actin scaffold protein, afadin, during murine development[J]. *Gene*, 2019, 689: 56-68. DOI: 10.1016/j.gene.2018.12.020.
- [10] NAKKA K, GHIGNA C, GABELLINI D, et al. Diversification of the muscle proteome through alternative splicing[J/OL]. *Skelet Muscle*, 2018, 8(1): 8[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5840707/>. DOI:10.1186/s13395-018-0152-3.
- [11] XIE R H, CHEN X, CHEN Z Y, et al. Polypyrimidine tract binding protein 1 promotes lymphatic metastasis and proliferation of bladder cancer via alternative splicing of MEIS2 and PKM[J]. *Cancer Lett*, 2019, 449: 31-44. DOI:10.1016/j.canlet.2019.01.041.
- [12] TYSON-CAPPER A, GAUTREY H. Regulation of Mcl-1 alternative splicing by hnRNP F, H1 and K in breast cancer cells[J/OL]. *RNA Biol*, 2018, 15(12): 1448-1457[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6333436/>. DOI: 10.1080/15476286.2018.1551692.
- [13] PRADELLA D, NARO C, SETTE C, et al. EMT and stemness: flexible processes tuned by alternative splicing in development and cancer progression[J/OL]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 8[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5282733/>. DOI: 10.1186/s12943-016-0579-2.
- [14] WANG F, FU X, CHEN P, et al. SPSB1-mediated HnRNP A1 ubiquitylation regulates alternative splicing and cell migration in EGF signaling[J/OL]. *Cell Res*, 2017, 27(4): 540-558[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5385621/>. DOI:10.1038/cr.2017.7.
- [15] CHEN L, YAO Y, SUN L J, et al. Snail driving alternative splicing of CD44 by ESRP1 enhances invasion and migration in epithelial ovarian cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(6): 2489-2504. DOI:10.1159/000484458.
- [16] HAN J, LI J, HO J C, et al. Hypoxia is a key driver of alternative splicing in human breast cancer cells[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4108[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5481333/>. DOI:10.1038/s41598-017-04333-0.
- [17] JUNG H, LEE D, LEE J, et al. Intron retention is a widespread mechanism of tumor-suppressor inactivation[J]. *Nat Genet*, 2015, 47(11): 1242-1248. DOI:10.1038/ng.3414.
- [18] DANAN-GOTTHOLD M, GOLAN-GERSTL R, EISENBERG E, et al. Identification of recurrent regulated alternative splicing events across human solid tumors[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(10): 5130-5144. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4446417/>. DOI:10.1093/nar/gkv210.
- [19] DVINGE H, BRADLEY R K. Widespread intron retention diversifies most cancer transcriptomes[J/OL]. *Genome Med*, 2015, 7(1): 45[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4480902/>. DOI:10.1186/s13073-015-0168-9.
- [20] KARNI R, DE STANCHINA E, LOWE S W, et al. The gene encoding the splicing factor SF2/ASF is a proto-oncogene[J/OL]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(3): 185-193[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4595851/>. DOI: 10.1038/nsmb1209.
- [21] ANCZUKÓW O, ROSENBERG A Z, AKERMAN M, et al. The splicing factor SRSF1 regulates apoptosis and proliferation to promote mammary epithelial cell transformation[J/OL]. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19(2): 220-228[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3272117/>. DOI:10.1038/nsmb.2207.
- [22] SHENG J X, ZHAO Q Z, ZHAO J Y, et al. SRSF1 modulates PTP-MT1 alternative splicing to regulate lung cancer cell radioresistance[J/OL]. *E Bio Medicine*, 2018, 38: 113-126[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6306353/>. DOI:10.1016/j.ebiom.2018.11.007.
- [23] CHEN L L, LUO C L, SHEN L, et al. SRSF1 prevents DNA damage and promotes tumorigenesis through regulation of DBF4B pre-mRNA splicing[J]. *Cell Rep*, 2017, 21(12): 3406-3413. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.11.091.
- [24] ZHOU X X, WANG R, LI X B, et al. Splicing factor SRSF1 promotes gliomagenesis via oncogenic splice-switching of MYO1B[J/OL]. *J Clin Invest*, 2019, 129(2): 676-693[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6355305/>. DOI:10.1172/JCI120279.
- [25] LI R Z, HOU J, WEI Y X, et al. HnRNPDL extensively regulates transcription and alternative splicing[J]. *Gene*, 2019, 687: 125-134. DOI:10.1016/j.gene.2018.11.026.
- [26] XIA H, CHEN D, WU Q J, et al. CELF1 preferentially binds to exon-intron boundary and regulates alternative splicing in HeLa cells[J]. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2017, 1860(9): 911-921. DOI:10.1016/j.bbagr.2017.07.004.
- [27] WANG Y, CHEN D, QIAN H L, et al. The splicing factor RBM4 controls apoptosis, proliferation, and migration to suppress tumor progression[J/OL]. *Cancer Cell*, 2014, 26(3): 374-389[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4159621/>. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.07.010.
- [28] SCHWERK C, SCHULZE-OSTHOFF K. Regulation of apoptosis by alternative pre-mRNA splicing[J]. *Mol Cell*, 2005, 19(1): 1-13. DOI:10.1016/j.molcel.2005.05.026.
- [29] HARVEY S E, XU Y L, LIN X D, et al. Coregulation of alternative splicing by hnRNPM and ESRP1 during EMT[J]. *RNA*, 2018, 24(10): 1326-1338. DOI:10.1261/rna.066712.118.
- [30] MASCARENHAS J B, TCHOURBANOV A Y, FAN H L, et al. Mechanical stress and single nucleotide variants regulate alternative splicing of the MYLK gene[J/OL]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 56(1): 29-37[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5248959/>. DOI:10.1165/rmb.2016-0053OC.
- [31] HERNÁNDEZ J, BECHARA E, SCHLESINGER D, et al. Tumor suppressor properties of the splicing regulatory factor RBM10[J/OL]. *RNA Biol*, 2016, 13(4): 466-472[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4841610/>. DOI: 10.1080/

- 15476286.2016.1144004.
- [32] LI T B, LIU Q, GARZA N, et al. Integrative analysis reveals functional and regulatory roles of H3K79me2 in mediating alternative splicing[J/OL]. *Genome Med*, 2018, 10(1): 30[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5902843/>. DOI:10.1186/s13073-018-0538-1.
- [33] NARAYANAN S P, SINGH S, SHUKLA S. A saga of cancer epigenetics: linking epigenetics to alternative splicing[J]. *Biochem J*, 2017, 474(6): 885-896. DOI:10.1042/BCJ20161047.
- [34] YUAN H R, LI N, FU D, et al. Histone methyltransferase SETD2 modulates alternative splicing to inhibit intestinal tumorigenesis[J/OL]. *J Clin Invest*, 2017, 127(9): 3375-3391[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5669571/>. DOI:10.1172/JCI94292.
- [35] COWLEY M, WOOD A J, BÖHM S, et al. Epigenetic control of alternative mRNA processing at the imprinted *Herc3/Nap115* locus[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(18): 8917-8926[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3467052/>. DOI:10.1093/nar/gks654.
- [36] SUNDAR R, HUANG K K, QAMRA A, et al. Epigenomic promoter alterations predict for benefit from immune checkpoint inhibition in metastatic gastric cancer[J/OL]. *Ann Oncol*, 2019, 30(3): 424-430[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6442650/>. DOI:10.1093/annonc/mdy550.
- [37] COWLEY M, WOOD A J, BÖHM S, et al. Epigenetic control of alternative mRNA processing at the imprinted *Herc3/Nap115* locus[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(18): 8917-8926[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3467052/>. DOI:10.1093/nar/gks654.
- [38] WANG H, ZHANG C Z, LU S X, et al. A coiled-coil domain containing 50 splice variant is modulated by serine/arginine-rich splicing factor 3 and promotes hepatocellular carcinoma in mice by the ras signaling pathway[J]. *Hepatology*, 2019, 69(1): 179-195. DOI:10.1002/hep.30147.
- [39] LING Y, KUANG Y Y, CHEN L L, et al. A novel RON splice variant lacking exon 2 activates the PI3K/AKT pathway via PTEN phosphorylation in colorectal carcinoma cells[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(24): 39101-39116[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5503598/>. DOI:10.18632/oncotarget.16603.
- [40] LEIBRAND C R, PRICE D K, FIGG W D. Androgen receptor splice variant 7 (AR-V7) and drug efficacy in castration-resistant prostate cancer: Biomarker for treatment selection exclusion or inclusion?[J/OL]. *Cancer Biol Ther*, 2016, 17(5): 467-469[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4910935/>. DOI:10.1080/15384047.2016.1156274.
- [41] WAN L D, YU W Y, SHEN E H, et al. SRSF6-regulated alternative splicing that promotes tumour progression offers a therapy target for colorectal cancer[J]. *Gut*, 2019, 68(1): 118-129. DOI:10.1136/gutjnl-2017-314983.
- [42] CHEN K, XIAO H B, ZENG J, et al. Alternative splicing of *EZH2* pre-mRNA by *SF3B3* contributes to the tumorigenic potential of renal cancer[J/OL]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(13): 3428-3441[2019-05-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5440213/>. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-16-2020.
- [43] WU D, MATSUSHITA K, MATSUBARA H, et al. An alternative splicing isoform of eukaryotic initiation factor 4H promotes tumorigenesis in vivo and is a potential therapeutic target for human cancer [J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(5): 1018-1030. DOI:10.1002/ijc.25419.

[收稿日期] 2019-06-02

[修回日期] 2019-07-08

[本文编辑] 王映红