

[11] Leij-Halfwerk S, Agteresch HJ, Sijens PE, et al. Adenosine triphosphate infusion increases liver energy status in advanced lung cancer patients: an in vivo ³¹P magnetic resonance spectroscopy study[J]. *Hepatology*, 2002, 35(2):421-424.

[12] Zhang CY, Zhang Q, Zhang HM, et al. 3.0 T ³¹P MR spectroscopy in assessment of response to antiviral therapy for chronic hepatitis C[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(8):2107-2112.

[13] Honda H, Kaneko K, Kanazawa Y, et al. Imaging of hepatocellular carcinomas: effect of Cu and Fe contents on signal intensity[J]. *Abdominal Imaging*, 1997, 22(1):60-66.

[14] Chang SX, Li GW, Chen Y, et al. Characterizing venous vasculatures of hepatocellular carcinoma using a multi-breath-hold two-dimensional susceptibility weighted imaging[J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(6):e65895.

[15] Chen W, DelProposto Z, Liu W, et al. Susceptibility-weighted imaging for the noncontrast evaluation of hepatocellular carcinoma: a prospective study with histopathologic correlation[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(5):e98303.

[16] Park HJ, Kim YK, Min JH, et al. Feasibility of blood oxygenation level-dependent MRI at 3T in the characterization of hepatic tumors[J]. *Abdominal Imaging*, 2014, 39(1):142-152.

[17] 于德新, 马祥兴, 宋吉慧, 等. MR 血氧水平参数 R2*, T2* 值在肝脏良、恶性占位性病变中的诊断价值[J]. *实用放射学杂志*, 2011, 27(11):1681-1684.

[18] 罗银灯, 赵建农, 钟维佳, 等. 磁共振血氧水平依赖成像观察原发性肝细胞肿瘤高强度聚焦超声治疗前后氧摄取变化特点[J]. *中国医学影像技术*, 2011, 27(12):992-996.

[19] Ichikawa S, Motosugi U, Morisaka H, et al. MRI-based staging of hepatic fibrosis: comparison of intravoxel incoherent motion diffusion-weighted imaging with magnetic resonance elastography[J]. *Magnetic Resonance Imaging*, 2015, 42(1):204-210.

[20] Shi Y, Guo Q, Xia F, et al. MR elastography for the assessment of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis B infection: does histologic necroinflammation influence the measurement of hepatic stiffness[J]. *Radiology*, 2014, 273(1):88-98.

[21] Motosugi U, Ichikawa T, Koshiishi T, et al. Liver stiffness measured by magnetic resonance elastography as a risk factor for hepatocellular carcinoma: a preliminary case-control study[J]. *European Radiology*, 2013, 23(1):156-162.

[22] Esterson YB, Flusberg M, Oh S, et al. Improved parenchymal liver enhancement with extended delay on Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI in patients with parenchymal liver disease: associated clinical and imaging factors[J]. *Clinical Radiology*, 2015, 70(7):723-729.

[23] 叶枫, 宋颖, 余小多, 等. 慢性肝病背景下钆塞酸二钠肝胆期成像对肝肿瘤的检出与定性[J]. *中国医学影像技术*, 2015, 32(4):571-575.

[24] Toyoda H, Kumada T, Tada T, et al. Non-hypervascular hypointense nodules on Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI as a predictor of outcomes for early-stage HCC[J]. *Hepatology International*, 2015, 9(1):84-92.

[25] Zhao J, Vykoukal J, Abdelsalam M, et al. Stem cell-mediated delivery of SPIO-loaded gold nanoparticles for the theranosis of liver injury and hepatocellular carcinoma[J]. *Nanotechnology*, 2014, 25(40):405101-405109.

(收稿日期:2015-10-25 修回日期:2015-12-24)

• 综 述 •

SRSF1 在肿瘤中的研究进展*

吕自兰, 郭变琴 综述, 吴立翔[△] 审校(重庆市肿瘤研究所检验科 400030)

【关键词】 富含丝氨酸/精氨酸剪接因子 1(SRSF1); 选择性剪接; 肿瘤
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.09.052 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)09-1278-03

人类基因中约有 94% 发生选择性剪接, 使同一前体 mRNA 分子产生不同基因型, 编码不同蛋白质, 极大增加了基因表达复杂程度和蛋白质多样性^[1]。不同组织出现疾病时显示特定模式剪接变体, 这些剪接模式依赖于剪接因子在细胞核中的相对表达, 包括表达量或翻译后修饰^[2]。富含丝氨酸/精氨酸剪接因子 1(SRSF1), 是 1 个典型富含丝氨酸/精氨酸 SR 蛋白家族成员, 参与基因组成性剪接和选择性剪接^[3]。SRSF1 通过调节基因选择性剪接参与肿瘤形成发展。

1 SRSF1 结构与功能

SRSF1 最初作为剪接因子为人们所发现, 其在 S100 HeLa

细胞提取物中促进剪接体召集和前体 mRNA 组成性剪接, 并可体外调节 SV40 前体 mRNA 早期选择性剪接^[4]。

SRSF1 定位于染色体 17q23, 包含 2 个 RNA 结合基序: 假 RRM 基序后 N 末端 RRM 结构域和 C 末端相对短富含精氨酸/丝氨酸 RS 结构域。剪接召集体中, 富含精氨酸/丝氨酸结构域介导蛋白质相互作用。通过交联免疫沉淀和高通量测序技术研究发现, 假 RRM 结构域偏向于结合富含 GA 外显子增强子(ESE)序列, 从而诱导 SRSF1 靶基因的选择性剪接改变^[5-6]。C 末端 RS 结构域通过丝氨酸残基磷酸化和去磷酸化在 SRSF1:ESE 复合物形成中起调节作用。N 末端包含 RRM

* 基金项目: 重庆市自然科学基金项目(cstc2014jcyjA1633)。
[△] 通讯作者, E-mail: wlx124610@aliyun.com。

区域决定特异 RNA 序列结合。ESE 与 SRSF1 结合不仅可以激活剪接也可以抑制剪接^[6-7]。

SRSF1 通过 RS 结构域发生细胞核-细胞质穿梭并调节其亚细胞核定位,还可通过翻译后修饰(如磷酸化,甲基化等)调节其亚细胞定位和作用^[4]。研究发现,SR 特异性蛋白激酶可以调节 SR 蛋白亚细胞定位,导致疾病发生,尤其是肿瘤。SR 蛋白特异性激酶包括 SRPK1、SRPK2 和 SRPK3,构成独特激酶家族。其具有长短不同间隔序列,将激酶结构域分为两叶,常见于络氨酸激酶,但丝氨酸/苏氨酸激酶罕见^[8]。SRPK1 区域特异性磷酸化 SRSF1 蛋白,通过翻译后修饰控制 SRSF1 细胞核-细胞质定位。SRPK1 结合 SRSF1 具有较高亲和力,常常快速修饰 10~12 个 RS 结构域 N 末端丝氨酸残基^[9]。

2 SRSF1 与肿瘤

剪接因子表达改变与肿瘤发展、进程以及对治疗的反应有关。研究表明,SRSF1 是 1 个潜在致病基因,其在多种肿瘤中都表达上调,如乳腺癌、肺肿瘤、结肠肿瘤、肾肿瘤以及急性淋巴细胞白血病等。SRSF1 在肿瘤中高表达与以下 3 种机制有关:(1)定位于染色体 17q23 的 SRSF1 基因 DNA 拷贝数增加使 SRSF1 mRNA 水平增加。(2)SRSF1 作为 Myc 靶基因,Myc 直接结合 SRSF1 启动子并激活其转录;SRSF1 和 Myc 在肺肿瘤和乳腺肿瘤中呈现共表达,另外,肺肿瘤细胞系中,Myc 沉默后下调 SRSF1 表达。(3)ERK/MAP 激酶活性在肿瘤中常增强,可促进剪接调节子 SAM68 磷酸化,而 SAM68 表达上调或磷酸化可促进 SRSF1 表达。此外,基因选择性剪接是肿瘤发生的另一关键特征。SRSF1 可调节基因选择性剪接,在特定细胞进程中改变基因剪接模式,产生利于肿瘤表型剪接转录本,参与肿瘤的发生发展,可见 SRSF1 在肿瘤发生、发展中起重要作用。研究表明,改变剪接因子表达或活性产生可选择性剪接转录本有利于肿瘤发生、进展以及抵抗药物治疗。因此,SRSF1 可作为肿瘤诊断标志以及治疗的重要靶点。

2.1 乳腺肿瘤 Anczuków 等^[10]采用原位移植小鼠模型,基于注射永生化、多能小鼠乳腺上皮细胞系 COMMA-1D 细胞重建乳腺,产生稳定转导 T7-SRSF1 的 COMMA-1D 细胞,并注射入 21 d 龄雌性清零乳腺脂肪垫 BALB/c 小鼠,作自身对照。结果表明,移植 COMMA-1D 细胞过表达 SRSF1 足以促进乳腺肿瘤发生。

Lee 等^[11]采用免疫印迹法和免疫荧光法检测发现,乳腺肿瘤中转移易感基因核糖体 RNA 加工 1 同源 B 蛋白 (PRP1B) 和 SRSF1 存在相互作用,当用转录抑制子处理细胞后,显著增加其相互作用。利用 shRNA 干扰 Mvt-1 和 4T1 细胞 Rrp1b 后,均显示细胞增殖和侵袭能力增强。另外,与对照组比较,下调 Rrp1b 诱导超过 600 个基因亚型表达改变。体内注射同系 FVB/NJ 和 BALB/c 小鼠乳腺脂肪垫,发现抑制细胞肺转移能力,说明了 PRP1B 通过与剪接因子 SRSF1 相互作用改变转录组,抑制转移进程。表明 SRSF1 在乳腺肿瘤侵袭转移中也起到重要作用。

Comiskey 等^[12]研究发现,SRSF1 在乳腺肿瘤 MCF-7 细胞中过表达后促进肿瘤基因 MDM2 产生具有肿瘤发生特性的 MDM2-ALT1 亚型,采用 siRNA 干扰 SRSF1 后则抑制 MDM2 产生 MDM2-ALT1 亚型,显示 SRSF1 是内源性 MDM2 选择性剪接的关键调节子。说明 SRSF1 是 1 个重要肿瘤基因和治疗肿瘤的重要靶点。

2.2 肺肿瘤 Miguel 等^[13]利用定量 PCR 检测原发性肺肿瘤和健康对照组肺组织中 SRSF1 表达,发现原发性肺肿瘤组织中 SRSF1 表达显著高于健康对照组。利用 siRNA 下调肺腺

肿瘤 A549 细胞 SRSF1 后,采用外显子指示方法分析全基因组差异选择性剪接事件,发现 PRRC2C 基因剪接失调。通过 PCR 和定量 PCR 试验证实,SRSF1 下调导致 PRRC2C 基因、PRRC2C-L(外显子包含变异体)基因下调和 PRRC2C-S(外显子跳跃变异体)基因显著增加,PRRC2C-L 基因下调显著抑制细胞生长,而 PRRC2C-S 增加对细胞生长无影响。

有学者采用免疫组化检测 SRSF1 在肺肿瘤中表达,结果显示 63% 肺腺肿瘤和 68% 鳞状细胞肿瘤 SRSF1 表达高于健康肺上皮细胞。通过进一步研究发现,SRSF1 过表达激活 PI3K/AKT 和 p42/44 MAPK 信号通路,增加肺腺肿瘤细胞侵袭能力,增加其对化疗药物卡铂和紫杉醇抵抗能力,且 SRSF1 高表达水平与肺腺肿瘤分级(Ⅲ~Ⅳ)相关。Shultz 等^[14]研究也发现,在非小细胞肺肿瘤中,SRSF1 与 Caspase 9 内含子增强子特异性结合调节 Caspase 9 选择性剪接,影响其对化疗药物柔红霉素、顺铂和紫杉醇的敏感性。表明改变剪接因子表达、关键基因分子剪接与非小细胞肺肿瘤治疗密切相关,且 SRSF1 下调可抑制 Myc 基因致肿瘤潜力,抑制肺肿瘤细胞生长。

2.3 结肠肿瘤 Goncalves 等^[15]采用 siRNA 干扰或加入抑制剂 SRPIN340 分别下调结肠肿瘤 HT29 细胞 SRPK1 表达或抑制其活性后,不影响 SRSF1 转录水平而显著减少其蛋白水平,并采用荧光共聚焦检测下调 HT29 细胞中 SRPK1 后对 SRSF1 亚细胞定位影响。结果表明,下调 SRPK1 使 SRSF1 转易位到细胞质中并加速 SRSF1 降解,降低其活性,进而减少 Rac1b 转录本水平。约 85% 结肠肿瘤中出现 Wnt 信号激活,核 β -catenin 表达升高。有研究报道,Wnt 信号失活结肠肿瘤细胞中,SRSF1 及其调节子 SRPK1 失调,且发现 Wnt 信号通路特异性上调 SRPK1。利用 RNA 干扰技术下调结肠肿瘤细胞系 DLD1 和 SW480 细胞 SRSF1 或其激酶 SRPK1 的表达,SLC39A14 基因选择性剪接改变,导致含 4B 外显子变异体比例增加。含 4B 外显子变异体与 Cd^{2+} 亲和力是含其互斥外显子 4A 变异体的 8 倍;而在环境中, Cd^{2+} 是肿瘤发生的潜在因素。因此,SRSF1 水平改变对结肠肿瘤发生起重要作用。

2.4 肾肿瘤 有学者利用定量 PCR 和 Western blot 检测 38 例肾细胞肿瘤及肿瘤旁对照组织样本中 SR 蛋白家族(包括 SRSF1 蛋白和非 SR 因子 hnRNP A1)mRNA 和蛋白水平,分析参与肿瘤发生 5 个基因 Caspase 9、RON、CEACAM1、Rac1 和 GLI1 的剪接模式。结果显示,肿瘤样本中特定剪接因子水平增加,5 个基因选择性剪接改变,其中 Caspase 9 和 CEACAM1 剪接模式改变,其与肿瘤中 SRSF1 表达有关。表明肾细胞肿瘤剪接因子表达改变可能导致调节肿瘤生长基因选择性剪接,从而促进肿瘤发生过程。

2.5 急性淋巴细胞白血病 Zou 等^[16]利用 RT-PCR 及 Western blot 检测 57 例急性淋巴细胞白血病患者配对骨髓样本(分为初诊、完全缓解和复发)SRSF1 表达,结果发现,SRSF1 和精氨酸甲基化蛋白 PRMT1 在初诊患者样本中表达上调。PRMT1 参与促进 SRSF1 核定位,患者完全缓解后 SRSF1 表达恢复正常水平,复发患者骨髓样本中表达仍然上调。使用化疗药物阿糖胞嘧啶或长春新碱后,SRSF1 表达减少。利用 shRNA 下调 Nalm-6 细胞 SRSF1 后可进一步增加化疗药物诱导细胞早期凋亡的细胞比例。表明 SRSF1 起抗凋亡作用,其可能作为潜在抗白血病治疗靶点。

3 小 结

综上所述,剪接因子 SRSF1 参与基因前体 mRNA 组成性和选择性剪接,在肿瘤发生、发展中起重要作用。SRSF1 活性

主要取决于其相对表达量及磷酸化状态。SRSF1 在肿瘤中常呈高表达,可作为肿瘤标志物。鉴于 SRSF1 可以调节肿瘤基因和抑肿瘤基因选择性剪接,参与肿瘤发生、发展过程中,其可能是较好肿瘤诊断靶点,在肿瘤治疗中具有广阔应用前景。然而,目前 SRSF1 在肿瘤中研究仅有少量文献报道,其在肿瘤诊断及治疗作用有待于进一步研究。深入研究 SRSF1 在肿瘤中的作用及其作用机制,可给肿瘤诊断和治疗提供新方向。

参考文献

[1] Oltean S, Gammons M, Hulse R, et al. SRPK1 inhibition in vivo; modulation of VEGF splicing and potential treatment for multiple diseases[J]. Biochemical Society Transactions, 2012, 40(4): 831-835.

[2] Wang ET, Sandberg R, Luo S, et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes[J]. Nature, 2008, 456(7221): 470-476.

[3] Fregoso OI, Das S, Akerman M, et al. Splicing-factor oncoprotein SRSF1 stabilizes p53 via RPL5 and induces cellular senescence[J]. Molecular Cell, 2013, 50(1): 56-66.

[4] Das S, Krainer AR. Emerging functions of SRSF1, splicing factor and oncoprotein, in RNA metabolism and cancer[J]. Molecular Cancer Research, 2014, 12(9): 1195-1204.

[5] Cléry A, Sinha R, Anczuków O, et al. Isolated pseudo-RNA-recognition motifs of SR proteins can regulate splicing using a noncanonical mode of RNA recognition[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(30): e2802-2811.

[6] Pandit S, Zhou Y, Shiue L, et al. Genome-wide analysis reveals SR protein cooperation and competition in regulated splicing[J]. Molecular Cell, 2013, 50(2): 223-235.

[7] Cho S, Hoang A, Chakrabarti S, et al. The SRSF1 linker induces semi-conservative ESE binding by cooperating with the RRM s[J]. Nucleic Acids Research, 2011, 39(21): 9413-9421.

[8] Zhou Z, Fu XD. Regulation of splicing by SR proteins and SR protein-specific kinases[J]. Chromosoma, 2013, 122

(3): 191-207.

[9] Ghosh G, Adams JA. Phosphorylation mechanism and structure of serine-arginine protein kinases[J]. FEBS Journal, 2011, 278(4): 587-597.

[10] Anczuków O, Rosenberg AZ, Akerman M, et al. The splicing factor SRSF1 regulates apoptosis and proliferation to promote mammary epithelial cell transformation[J]. Nature Structural and Molecular Biology, 2012, 19(2): 220-228.

[11] Lee M, Dworkin AM, Gildea D, et al. RRP1B is a metastasis modifier that regulates the expression of alternative mRNA isoforms through interactions with SRSF1[J]. Oncogene, 2014, 33(14): 1818-1827.

[12] Comiskey DF, Jacob AG, Singh RK, et al. Splicing factor SRSF1 negatively regulates alternative splicing of MDM2 under damage[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(8): 4202-4218.

[13] Miguel FJ, Sharma RD, Pajares MJ, et al. Identification of alternative splicing events regulated by the oncogenic factor SRSF1 in lung cancer[J]. Cancer Research, 2014, 74(4): 1105-1115.

[14] Shultz JC, Goehe RW, Murudkar CS, et al. SRSF1 regulates the alternative splicing of caspase 9 via a novel intronic splicing enhancer affecting the chemotherapeutic sensitivity of non-small cell lung cancer cells[J]. Molecular Cancer Research, 2011, 9(7): 889-900.

[15] Goncalves V, Henriques A, Pereira J, et al. Phosphorylation of SRSF1 by SRPK1 regulates alternative splicing of tumor-related Rac1b in colorectal cells[J]. RNA, 2014, 20(4): 474-482.

[16] Zou L, Zhang H, Du C, et al. Correlation of SRSF1 and PRMT1 expression with clinical status of pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. Journal of Hematology and Oncology, 2012, 5(1): 42-52.

(收稿日期: 2015-10-21 修回日期: 2015-12-22)

• 综 述 •

循环肿瘤细胞生物物理特性的研究*

安 成, 程 实, 王 涛, 冯 雪 综述, 刘贵建[△]审校(中国中医科学院广安门医院检验科, 北京 100053)

【关键词】 循环肿瘤细胞; 物理属性; 生物特性
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2016. 09. 053 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)09-1280-04

被称为液体活检的循环肿瘤细胞(CTC)是由实体瘤原发灶或转移灶脱落进入循环系统的肿瘤细胞,具有肿瘤原发灶或转移灶生物标记,在循环系统中有 3 种归宿:受到免疫系统攻

击被清除,此为大多数 CTC 结局;进入休眠或静止状态;适应微环境,以单个肿瘤细胞或若干个肿瘤细胞、淋巴细胞与附着血小板形成集合簇方式在血液中运输。集合簇形成能为其提

* 基金项目:中国中医科学院广安门医院所级课题资助项目(2003S65;2014S301)。
[△] 通讯作者, E-mail: liuguujian@163. com。