

Skp2 的研究进展

李 晖综述,江孝清,周绪红审校

关键词:Skp2;细胞周期;肿瘤

中图分类号:R730.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2005)02-0119-03

0 引言

细胞内泛素-蛋白酶体途径通过对泛素化蛋白进行降解,在细胞周期发展、基因转录及信号转导等过程中发挥重要作用。此途径主要包括两步,即蛋白的泛素化,由泛素激活酶(E1)、泛素结合酶(E2)及泛素连接酶(E3)等共同完成;经泛素化的蛋白随后被 26S 蛋白酶体复合物降解。E3 家族成员 SCF^{Skp2} 泛素连接酶由 Skp2 与 Skp1, Cul1/cdc53 及 Rbx1 结合形成。Skp2 属 F 盒蛋白家族成员,在泛素化过程中负责对底物蛋白的识别而决定 SCF^{Skp2} 复合物作用的特异性。Skp2 通过对多种靶蛋白的泛素化降解而与细胞周期调控及肿瘤的发生、发展和预后密切相关。

1 Skp2 的结构

Skp2 基因是 1995 年由 Demetrick 等^[1]通过荧光原位杂交发现的一个与细胞周期调控密切相关的基因,其定位于 5p13,编码的蛋白质由 436 个氨基酸组成,分子量约 47 KD。目前所知的 Skp2 含有 1 个 F 盒区、10 个富亮氨酸重复区(leucine-rich repeat, LRR)及 1 个 C 末端尾巴结构,三者依次相互连接。约由 40 个氨基酸组成的 F 盒区由三个 α -螺旋结构构成,与 Skp1 调节蛋白相连。每个 LRR 由一个 α -链和一个 β -螺旋构成,LRR 在蛋白泛素化过程中与底物蛋白直接相连。目前,N-端约 100 个氨基酸区域结构和功能尚不完全清楚^[2]。

2 Skp2 表达的调节机制

Skp2 以细胞周期依赖的形式在 G₁ 晚期开始出现,S/G₂ 期高表达,然后其 mRNA 和蛋白水平迅速下降。目前研究认为 Skp2 的表达受转录及转录后水平双重调节,且在不同类型的细胞中起主导作用的调节机制不同。Imaki 等^[3]发现在 HeLa 及

NIH3T3 细胞中,GA-连接蛋白与 Skp2 启动子区以细胞周期依赖的方式连接启动 Skp2 的转录,Skp2 mRNA 周期性表达,此种转录调节方式在控制 G₁ ~ S 期发展中 Skp2 的表达发挥重要作用。Wirhelauer 等^[4]报道 Skp2 在人类 T98G 细胞中表达主要受转录后水平调节。由 Cul1 组成的核泛素连接酶通路参与 G₀/G₁ 期 Skp2 的快速降解使其表达缺失,G₁ ~ S 期 Skp2 稳定性增加,半衰期延长。正常组织中细胞与胞外基质粘附信号(ECM)能促进 Skp2 转录活动,而生长因子则能稳定 Skp2 的活性,两者通过不同的方式使 Skp2 表达上调^[5]。此外,抑癌基因 PTEN 及连接蛋白 43 对 Skp2 表达的调节可能有抑制作用,但其具体作用机制有待进一步探讨及证实^[6,7]。

3 Skp2 与细胞周期调控

真核生物细胞周期的调控有赖于细胞周期素依赖性激酶(CDK)的活化,周期素(cyclin)是 CDK 的正调节因子,活化 CDK 活性;CDK 抑制剂(CDKI)则是负调节因子,使 CDK 失活。目前所知的对 CDK 具有广谱抑制作用的 CDKI 包括 p21、p27 和 p57。

Skp2 蛋白最初被发现与 cyclinA-CDK 复合物相互作用,故称为 S 期激酶相关蛋白 2(S-phase kinase associated protein 2)^[2]。Skp2 在静止成纤维细胞中诱导 p27 蛋白降解,cyclinA 聚集,cyclinA-CDK2 激活及 S 期进入^[5]。Kamura 等^[8]通过免疫沉淀反应分析表明 Skp2 在体内与 p57 相互作用,野生型 Skp2 的过表达促进 p57 的降解,而 Skp2 突变延长 p57 的半衰期。Gil 等^[9]报道 Skp2^(-/-) 鼠胚胎成纤维细胞中 p21 水平在 S 期明显比野生型细胞高,p21 的降解率在 Skp2 缺失的细胞中显著降低,表明 Skp2 参与 S 期 p21 的降解。以上研究显示 Skp2 通过对 CDKI 的泛素化及降解而促进细胞周期 G₁/S 转换及 S 期的发展。

目前研究表明 Skp2 对 CDKI 的作用受多种因素影响。Skp2 仅特异地与磷酸化的 p27 及 p57 相

收稿日期:2004-03-01;修回日期:2004-06-29

作者单位:430071 武汉大学中南医院耳鼻喉科

连,两者的磷酸化均由 cyclinE-CDK2 复合物介导^[8]。p21 则与两者不同,Skp2 可同时影响磷酸化及非磷酸化 p21,p21 的磷酸化可促进 Skp2 的作用,但不是两者相互作用所必需的^[9]。Sitry 等^[10]报道细胞周期调节蛋白 Suc1/Cks 家族成员 Cks1 通过其三个不同的连接位点促进 Skp2 对磷酸化 p27 的作用。Morimoto 等^[11]发现 SCF^{skp2}复合物中亚单位 Cul1 被类泛素蛋白 Nedd8 改变后促进 p27 的泛素化,而突变的 Cul1 则无此影响,Cul1 改变后可能使 SCF^{skp2}复合物中各成分与底物蛋白的作用均加强。此外,Skp2 与调控 p27 功能的蛋白 Jab1 可能有协同作用,泛素依赖的 p27 的降解主要在胞质中进行,而连接蛋白 Jab1 有助于胞核中 p27 进入胞质以便 Skp2 对其识别^[12]。

Skp2 除下调 CDKI 的水平外,还通过其他途径调控细胞周期。Kei-Ichi 等^[12]报道 Skp2 通过泛素机制在 S 期与磷酸化 cyclinE 相连促其降解,这可能对细胞周期 S 期的有序发展及保持染色体核型的稳定发挥重要作用。Kim 等^[13]研究表明 Skp2 既参与癌蛋白转录因子 Myc 的降解,同时又是 Myc 的转录刺激因子,Skp2 对 Myc 转录活动的刺激在诱导 S 期的转变中发挥不可缺少的作用,Skp2 是否也对其他转录因子如 E2F-1 发挥类似的作用还有待于进一步研究。

4 Skp2 与肿瘤

近年来多项研究表明,Skp2 有癌基因的潜能,在多种人类恶性肿瘤中高表达,且与肿瘤的发生、发展及预后密切相关,可作为肿瘤治疗的新靶点。

Zhang 等^[6]用免疫组化法检测 622 例前列腺癌,74 例前列腺癌前病变及 4 例正常组织中 Skp2 的表达,结果发现正常前列腺组织中 Skp2 水平极低,而前列腺癌及癌前病变中其水平大大增加,均与正常组织有显著差异,且 Skp2 的表达与临床分期、转移正相关。利用卡迈二氏曲线分析表明,Skp2 高表达的肿瘤患者存活时间较低表达者明显缩短。这一结果表明 Skp2 为临床预测前列腺的发生、发展和预后提供了一个新的指标。Kudo 等^[14]用相同方法测定口腔鳞状细胞癌(OSCC)及其癌前病变中 Skp2 及 p27 表达时发现,49% 的癌组织中存在 Skp2 高表达,而癌前组织中仅为 20%,Skp2 的高表达与 p27 水平及病人预后负相关,用 Western Blot 分析进一步证实了这种关系。这些发现表明:(a) Skp2 可能在 OSCC 发展中起重要作用;(b) Skp2 可能是 OSCC 治疗的一个新的靶点和有力的预后标记;(c) p27 蛋白的减少可能是由于 Skp2 对其增加

的降解所致。Dong 等^[15]对 102 例喉鳞状细胞癌标本进行免疫组化分析发现 Skp2 表达阳性率为 36.7%,并明显与淋巴结转移正相关($P = 0.002$),说明 Skp2 与肿瘤发展有关。多因素分析表明 Skp2 可作为判断其预后的一个独立的指标。

此外,诸多研究提示 Skp2 的阳性表达与其他恶性肿瘤如胃癌、结直肠癌、乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、软组织肿瘤等的预后呈显著负相关。

同时,有报道认为 Skp2 在肿瘤中的表达与肿瘤的生物行为密切相关。Masuda 等^[16]发现转染 Skp2 的胃癌细胞其生长率、侵袭性及对放射菌素所诱导的凋亡抵抗均明显高于对照组,Yokoi 等^[17]在体外肺癌细胞的研究中发现反义寡聚核苷酸下调 Skp2 表达阻止小细胞肺癌细胞生长,并表现出明显的自发性凋亡。在非小细胞肺癌中也出现类似的现象。但也有人对 Skp2 促癌细胞增殖提出不同的看法。Gstaiger 等^[18]在部分口腔鳞癌中发现 Skp2 高表达而细胞增殖活动低下,这一发现表明癌细胞中 Skp2 的增加并不总与细胞增殖相关,Skp2 的表达可能有助于癌细胞恶性表型发生改变而不影响其增殖活动。

目前,以 Skp2 为靶点的抗癌治疗的研究才刚起步。事实证明,靶向 Skp2 的抗癌治疗具有巨大的潜力和广阔前景。首先,Skp2 在多种肿瘤中高表达或普遍表达,而在相应正常组织中低表达或不表达,使靶向治疗具有较好的特异性;其次,Skp2 在细胞中呈周期依赖性表达,靶向治疗能在周期中相应的阶段增加化疗、放疗的药敏性;其三,Skp2 对细胞周期调控发挥重要作用,研究发现千金藤碱及维生素 D 类似物 EB1089 均可降低癌细胞中 Skp2 表达,提高 P27 蛋白水平,导致细胞周期停顿,抑制癌细胞增殖^[19,20]。此外,随着肿瘤细胞中 Skp2 表达调节机制的阐明,将为 Skp2 的靶向治疗提供新的思路和策略。

5 展望

诸多研究证实,Skp2 作为一种癌蛋白在人类众多恶性肿瘤中表达,并与部分肿瘤的增殖、凋亡及预后关系密切,在肿瘤的发生、发展中有重要作用。随着 Skp2 和其他细胞周期调控蛋白、癌基因、抑癌基因关系的深入研究及其调控机制的进一步阐明,将有利于肿瘤发病机制的阐明,并为肿瘤的诊治提供更充分的理论依据,以 Skp2 为靶点的抗癌治疗可能成为肿瘤治疗的一个新的突破口。

参考文献:

- [1] Demetrick DJ, Zhang H, Beach DH, et al. Chromosomal mapping of the genes for the human CDK2/ cyclinA-associated proteins p19 (SKP1A and SKP1B) and p45 (SKP2) [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1996, 73(1-2): 104-107.
- [2] Schulman BA, Carrano AC, Jeffrey PD, et al. Insights into SCF ubiquitin ligases from the structure of the skp1-skp2 complex [J]. *Nature*, 2000, 408(16): 381-386.
- [3] Imaki H, Nakayama K, Delehouzee S, et al. Cell cycle dependent regulation of the skp2 promoter by GA-binding protein [J]. *Cancer Research*, 2003, 63(15): 4607-4613.
- [4] Wirhelaue C, Sutterluty H, Blonelel M, et al. The F-box protein skp2 is a ubiquitylation target of a cul1-based core ubiquitin ligase complex: evidence for a role of cul1 in the suppression of skp2 expression in quiescent fibroblasts [J]. *The EMBO Journal*, 2000, 19(20): 5362-5375.
- [5] Cha H, Shapiro P. Role of the F-box protein Skp2 in adhesion dependent cell cycle progression. *The Journal of cell biology* [J]. 2001, 153(7): 305-313.
- [6] Yang G, Ayala G, Marzo AD, et al. Elevated skp2 protein expression in human prostate cancer: association with loss of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 and PTEN and with reduced recurrence-free survival [J]. *Clinical Cancer Research*, 2002, 8(11): 3419-3426.
- [7] Zhang YW, Nakayama K, Nakayama KI, et al. A novel route for connexin 43 to inhibit cell proliferation: negative regulation of S-phase kinase-associated protein (skp2) [J]. *Cancer Research*, 2003, 63(7): 1623-1630.
- [8] Kamura T, Hara T, Kotoshiba S, et al. Degradation of p57 mediated by SCF-dependent ubiquitylation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(18): 10231-10236.
- [9] Gil B, Joanna B, Danielle SS, et al. Role of the SCF Skp2 ubiquitin ligase in the degradation of p21Cip1 in S phase [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(28): 25752-25757.
- [10] Sitry D, Seeliger MA, Ko TK, et al. Three different binding sites of cks1 are required for p27-ubiquitin ligation [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(44): 42233-42240.
- [11] Morimoto M, Nishida T, Honda R, et al. Modification of Cullin-1 by Ubiquitin-like Protein Nedd8 Enhances the Activity of SCFskp2 toward p27kip1 [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000, 270(3): 1093-1096.
- [12] Nakayama KI, Hatakeyama S, Nakayama K, et al. Regulation of the cell cycle at G1-S transition by proteolysis of cyclin E and p27 [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, 282(12): 853-860.
- [13] Kim SY, Herbst A, Tworkowski KA, et al. Skp2 regulates Myc protein stability and activity [J]. *Molecular Cell*, 2003, 11(5): 1177-1188.
- [14] Kudo Y, Kitajima S, Sato S, et al. High expression of S-phase kinase-interacting protein 2, human F-box protein, correlates with poor prognosis in oral squamous cell carcinomas [J]. *Cancer Research*, 2001, 61(19): 7044-7047.
- [15] Dong Y, Sui L, Watanabe Y, et al. S-phase kinase-associated protein 2 expression in laryngeal squamous cell carcinomas and its prognostic implications [J]. *Oncology Reports*, 2003, 10(2): 321-325.
- [16] Masuda TA, Inoue H, Sonoda H, et al. Clinical and biological significance of S-phase kinase-associated protein 2 (Skp2) gene expression in gastric carcinoma: modulation of malignant phenotype by Skp2 overexpression, possibly via p27 proteolysis [J]. *Cancer Research*, 2002, 62(13): 3819-3825.
- [17] Yokoi S, Yasui K, Lizasa T, et al. Down-regulation of skp2 induce apoptosis in lung-cancer cells [J]. *Cancer Science*, 2003, 94(4): 344-349.
- [18] Gstaiger M, Jordan R, Lim M, et al. Skp2 is oncogenic and overexpressed in human cancers [J]. *PNAS*, 2001, 98(9): 5043-5048.
- [19] Harada K, Supriatno, Yamamoto S, et al. Cepharanthine exerts antitumor activity on oral squamous cell carcinoma cell lines by induction of p27kip1 [J]. *Anticancer Research*, 2003, 23(9): 1441-1448.
- [20] Lin R, Wang TT, Miller WH, et al. Inhibition of F-box protein p45skp2 expression and stabilization of cyclin-dependent kinase inhibitor p27kip1 in vitamin D analog-treated cancer cells [J]. *Cancer Research*, 2003, 63(3): 749-753.

[编辑校对:安 凤]