

# RNA 结合蛋白 HuR 研究及其在胃癌发生发展中的作用

张一宁<sup>1</sup> 薛明团<sup>2</sup>

(1.赤峰学院临床医学院 内蒙古赤峰 024000 2.赤峰学院附属医院 内蒙古赤峰 024000)

摘要: RNA 结合蛋白 (RNA-binding proteins, RBP) 是基因转录后的重要调节因子, 靶 mRNA 稳定性及靶蛋白的翻译过程参与机体生命活动。在所有 RBP 中, HuR 是特征性最好、唯一在人体各个组织中普遍表达的 RNA 结合蛋白, RNA 结合蛋白 HuR 是胚胎致死性异常视觉基因 (ELAVL1) 的蛋白质产物, 它几乎在所有癌症中均过表达。近年来, 多项研究发现 HuR 通过转录、转录后调控及翻译后修饰来稳定靶 mRNA 及调节靶基因的翻译参与机体生命过程。本文重点讨论 HuR 功能及其在胃癌发生发展中的作用以期胃癌治疗提供新的靶点。

关键词: RNA 结合蛋白; HuR 蛋白; 胃癌

中图分类号: R735

## 0 引言

转录后基因调节机制是真核生物基因表达中的重要组成部分, 如 mRNA 剪接与成熟, 转运、稳定与翻译及降解。RNA 结合蛋白 (RNA-binding proteins, RBP) 在其中发挥着关键作用, 它可以作用于一个或多个靶 mRNA 的 5' 和 3' 非翻译区 (UTR), 严格调控许多癌蛋白、抑癌蛋白和细胞生长凋亡相关蛋白 mRNA 半衰期及翻译。这种水平的基因调控对正常发育至关重要, 但当失调时, 会引起包括癌症在内多种疾病的发生。RNA 结合蛋白是一类关键的生物分子, 其功能在于与 RNA 相互作用, 调控基因表达和 RNA 代谢过程。这些蛋白通常通过结合特定的 RNA 序列或结构来实现其功能, 参与转录、剪接、运输和降解等关键生物学过程。其多样性和复杂性使得 RNA 结合蛋白在细胞内发挥着多种角色, 从而对生命的正常功能产生深远影响。对于理解基因调控和疾病发展等方面, 深入研究 RNA 结合蛋白的特性和机制至关重要。越来越多的研究表明 HuR 是研究最好的、在整个 ELAV 家族中唯一在所有人体组织中普遍表达的一种 RBP, 通常作为癌基因或抑癌基因参与各种靶基因亚细胞定位、转录后调控和翻译后修饰的表达。

## 1 HuR 的结构和功能

HuR, 也称为 HuA 或胚胎致死性异常视觉样蛋白 1 (ELAVL1), 与 HuB, HuC 和 HuD 组成 ELAV/Hu 家族四大成员。它们具有高度同源序列和相似结构, HuR 结构主要由三个 RNA 识别基序 (RRM1-3) 和一个铰链区 (HNS) 组成, 三个 RRM 由 10 个氨基酸串联而成, 与其他三个家族成员具有高度的序列同源性和结构相似性。N 末端附近的前两个串联排列的 RRM (RRM1 和 RRM2) 直接与位于 3' 非翻译区 (UTR) 携带富含腺嘌呤和尿苷的元件 (ARE) 或富含尿苷的序列的靶转录本相互作用。C 末端上 RRM3 结构域引起 HuR 与靶 mRNA 解离。此外 RRM3 也参与 RNA 的识别和结合<sup>[1]</sup>。铰链区由 60 个氨基酸构成, 将 RRM3 与 RRM1-2 分开并促进 RRM3 和 RRM1-2 之间的瞬时连接。该连接子区域包含 HuR 核细胞质穿梭序列 (HNS), HNS 与转运蛋白 1 和 2 (Trn 1 和 2) 结合, 促进 HuR 蛋白及靶 mRNA 通过核孔转运到细胞质。

## 2 HuR 的核质转运

HuR 的生物学功能主要由其核质转运完成。在生理条件下, HuR 在人体组织中普遍表达, 主要定位于静止细胞的细胞核中参与转录前 mRNA 剪接和核输出。在特定刺激 (如缺氧、放射性损伤、DNA 损伤等) 时, HuR

与其靶 mRNA 上 AREs 结合增强 mRNA 稳定性, 在导入因子转运蛋白-1 (Tm1) 和-2 (Tm2) 以及适配器蛋白 ANP32A (pp32/PHAP-1) 和 ANP32B (APRIL) 的帮助下, 通过 HNS 的协助下易位到细胞质中促进 mRNA 转录与翻译。HuR 与靶 mRNA 结合参与细胞生长增殖及凋亡, 参与脂肪生成、肌肉分化及免疫反应等生理过程。此外, HuR 与炎症反应及癌症发生发展也密切相关。HuR 的核质转运是发挥功能的关键步骤, 共济失调-毛细血管扩张突变激酶 (ATM) /P38 信号通路、p38MAPK、易位蛋白 18kDa (TSPO)、TNF- $\alpha$  /钙网蛋白 (CRT) 双信号传导通路等促进 HuR 的核质转运。其中 p38 是辐射诱导生物反应的重要调节因子。在辐射条件下, 共济失调-毛细血管扩张突变激酶 (ATM) 在 Ser1981 自磷酸化激活 P38, 而后 P38 促进 HuR 从细胞核向细胞质的易位而活化但不影响 HuR 表达, HuR 与线粒体转录因子 A (TFAM) mRNA 的结合并促进 TFAM 蛋白表达, 而 TFAM 可促进癌细胞的生长增殖, 抑制癌细胞凋亡, 最终促进癌症的发生<sup>[2]</sup>。因此, 通过调节这些信号通路表达可促进 HuR 转移到细胞质中参与细胞生物学过程。

### 3 HuR 作用机制

HuR 上 RRM 通过与其靶 mRNA 上 AREs 结合, 增强 mRNA 稳定性并调节翻译, 这个过程通过转录, 转录后和翻译后修饰进行调节。Jeyaraj, S 等研究发现<sup>[3]</sup>脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /AKT 信号通路激活后, 促进 p65/RelA 与 HuR 启动子中 NF- $\kappa$ B 结合位点结合, 促进 HuR 细胞质转运。HuR 在转录后水平增加 mRNA 的稳定性及调节靶蛋白翻译, 积极参与细胞生长增殖, 侵袭迁移, 血管生成及凋亡。HuR 可以增强缺氧诱导因子  $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )、血管内皮生长因子 (VEGF)、肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$ 、白细胞介素 (IL)-3 mRNA 的稳定性进而参与肿瘤的发生发展。此外, 多项研究发现在肾透明细胞癌、非

小细胞性肺癌及胶质母细胞瘤中 HuR 结合并稳定 PD-L1 mRNA 从而增强 PD-L1 表达, 最终促进肿瘤免疫逃逸<sup>[4]</sup>。HuR 稳定这些 mRNA 的确切机制尚不完全清楚, 但 HuR 可能与其他 RBP 如四脯氨酸 (TTP)、AU 结合因子 1 (AUF1)、CUG 结合蛋白 1 (CUGBP1) 竞争性调节靶 mRNA 稳定性, 将 mRNA 召集到外泌体和加工体上降解来减弱 mRNA 稳定性。另外, HuR 也可以绕过影响靶 mRNA 稳定性而直接影响靶蛋白翻译调节机体生命活动。自噬/蛋白酶体抑制剂 AICAR 和 MG132 (A+M) 触发 Erk1/2 激活, 进而抑制 AMPK, 最终导致 HuR 核质转运, HuR 与自噬相关蛋白 p62 mRNA 结合促进 P62 蛋白翻译, 但不增强其 mRNA 稳定性。HuR 可以识别蜗牛编码的 mRNA 中富含 AU 的元素, 从而促进蜗牛翻译, 蜗牛蛋白表达促进了上皮-间充质转化 (EMT) 相关 E-钙粘蛋白的表达, 进而促进食管癌的侵袭与转移。此外, HuR 还具有抑制靶蛋白翻译的功能, HuR 通过与 IGF-IR 上 5'非翻译区域 (5'UTR) 结合, 部分或全部阻止内部核糖体进入位点 (IRES) 帽依赖性内部核糖体-反式作用因子 (ITAF) 复合物形成来抑制单边翻译过程<sup>[5]</sup>。

HuR 最主要的功能就是稳定靶 mRNA 并促进后者翻译, 但部分可抑制翻译过程。以上介绍目前研究 HuR 从核质穿梭到在细胞质发挥功能的过程, 但具体的作用机制及调节因子还不清楚, 有待进一步研究。

翻译后修饰: 翻译后修饰发生在蛋白质合成时及之后添加或去除小化学基团 (例如磷酸盐、乙酰基或甲基)、碳水化合物、脂质或其他氨基酸来调节蛋白质稳定性、亚细胞定位及结构与功能的修饰过程。许多 RBP 在翻译后被修饰来调节 mRNA 功能, 如核糖体 RBP 调节结构构象, poly (A) 结合蛋白 (PABP) 与广泛的 RNA 序列结合, 而其他 RBP 结合并调节不同靶 mRNA 上特定序列。对选定的靶 mRNA 亚群调节功能最好的 RBP 之一是

HuR, HuR 的翻译后修饰主要包括磷酸化、泛素化、甲基化。缺氧或肾上腺素能信号传导促进 G 蛋白偶联受体激酶 (GRK2) 在 Ser670 位点上磷酸化 HuR 铰链区域 S197, 使 HuR 转移到细胞质中发挥功能<sup>[6]</sup>。蛋白泛素化是通过 E1 泛素激活酶将泛素转移到 E2 (泛素偶联酶), 而 E2 将泛素转移到靶蛋白 E3 泛素连接酶上, HuR 泛素化主要通过影响靶蛋白 HuR 活性来影响靶 mRNA 蛋白表达。Pih2 (p53 诱导的 RING-H2 蛋白) 泛素化 HuR 蛋白, 导致 HuR 蛋白酶体降解, 阻止 HuR 与 c-MycmRNA 结合<sup>[7]</sup>。蛋白质上精氨酸残基甲基化是哺乳动物蛋白质中最常见的翻译后修饰之一, 主要过程是蛋白质精氨酸甲基转移酶 (PRMT) 将甲基从 S-腺苷甲硫氨酸转移到靶蛋白上特定精氨酸残基对靶蛋白进行甲基化。研究发现高浓度 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 导致 HuR 甲基化, 诱导 HuR 穿梭到细胞质中, 与 AT1R 相关蛋白 (ATRAP) mRNA 结合, 提高 ATRAP 蛋白表达水平<sup>[8]</sup>。由上面研究可知, HuR 通过翻译后磷酸化、泛素化、甲基化等修饰过程, 调节 HuR 蛋白活性从而参与生命活动过程, 那么, 临床是否可以研究相关治疗通过影响 HuR 的翻译后修饰从而改善患者预后值得我们进一步深入探究。

#### 4 HuR 在胃癌中的研究进展

胃癌是世界第五大最常见癌症和第三大癌症相关死亡原因, 是中国主要的癌症死亡原因。与幽门螺杆菌感染、饮酒、高盐摄入量及低水果和蔬菜摄入量有关。早期胃癌可采用手术切除的方法, 但常常不易被发现。被发现时已为晚期, 通常采取化疗、靶向治疗及姑息治疗等方法延缓胃癌的进展, 但五年生存率仅为 20%-50%<sup>[9]</sup>。因此, 亟待研究胃癌新的诊断和治疗靶点。

HuR 通过核质转运到细胞质中与靶标 mRNA 结合参与细胞增殖、迁移侵袭、免疫逃逸、血管生成, 细胞凋亡等过程。在多种肿瘤中过表达, 以消化系统肿瘤尤

甚。因此, 探索 HuR 在胃癌中的表现为胃癌的靶向治疗提供新的方向。CNBP 是一种高度保守的锌指蛋白, 可与靶基因的启动子结合促进肿瘤的生长。Yang, F 等<sup>[10]</sup>发现 Cir-HuR (抑癌环状核) 抑制细胞核结合蛋白 (CNBP) 结合胃癌细胞 HuR 启动子抑制 HuR 转录, HuR 表达降低使促进胃癌细胞生长和增殖的靶 mRNA 的半衰期缩短。Wu, W 等<sup>[11]</sup>研究发现在胃癌 SGC 细胞中发现 PKC  $\delta$  在 Ser 318 处磷酸化 HuR, 促进 HuR 从细胞核到细胞质的易位。此外, PKC  $\alpha$  在 Ser158 和 Ser221 处磷酸化 HuR 促进 HuR 核质穿梭, 而 5-氟尿嘧啶 (5-Fu) 降低了由 PKC  $\delta$  介导的 HuR 核质穿梭, 导致细胞质中 HuR 的降低, 抑制胃癌细胞增殖。Snail 是促进上皮到间充质转化 (EMT) 的关键因子, 重组 IL-17a (rIL-17a) 可促进 Snail 翻译, 但不会增强 Snail mRNA 稳定性和蛋白表达, Liu, N 等<sup>[12]</sup>研究发现 rIL-17a 增加 HuR 的表达显著促进了 snail mRNA 和翻译过程从而促进胃癌细胞的迁移, 侵袭和上皮到间充质转化 (EMT)。由此可知, HuR 在胃癌细胞发生发展中发挥重要的作用, 因此, HuR 可以作为胃癌治疗的新靶点, 但因目前研究尚少尚还不足以确定认定其在胃癌细胞中的价值, 有待于扩充实验内容进一步探究 HuR 在胃癌细胞中的作用抑制。

#### 5 结语

近年来, 随着对 RBP 的深入研究我们发现 HuR 在炎症和肿瘤的发生发展中发挥着桥梁作用, 并且现在发现多种 RNA 靶向治疗药物在临床治疗效果良好, 而现在对转录因子 HuR 在胃癌的研究还较浅, 对 HuR 抑制剂 CMLD-2、KH-3 虽然在有小小阻断 HuR 与靶 mRNA 结合, 但也处于研究的初始阶段, 靶向特异性 HuR 细胞质易位或 HuR-RNA 相互作用的小分子抑制剂的疾病治疗关键。迄今为止, HuR 抑制剂的潜在脱靶物尚未得到充分研究。除此之外, 抑制剂的理化性质对其体内疗效有

很大影响。因此, 评估 HuR 小分子抑制剂的特异性、药物相似性和安全性对于将该策略推向临床研究至关重要。未来将 HuR 抑制剂与化疗及靶向治疗联合应用于临床肿瘤患者治疗及改善预后不良等情况是一种很有价值的研究方向并具有非常远大的前景, 有必要继续深入研究 HuR 及其生物学机制与作用通路为胃癌的临床靶向治疗及提高患者预后提供帮助。此外, HuR 家族成员 HuB, HuC 和 HuD 研究较少, HuR 与家族成员之间相互作用关系及其自身在机体病理生理活动的调节机制有必要继续深入研究以期对胃癌诊断及治疗提供新的思路与靶点。

#### 参考文献:

- [1]PABIS M, POPOWICZ G M, STEHLE R, et al. HuR biological function involves RRM3-mediated dimerization and RNA binding by all three RRMs [J]. *Nucleic acids research*, 2019, 47(2): 1011–1029.
- [2]ZHANG R, WANG J. HuR stabilizes TFAM mRNA in an ATM/p38-dependent manner in ionizing irradiated cancer cells [J]. *Cancer science*, 2018, 109(8): 2446–2457.
- [3]JEYARAJ S C, SINGH M, AYUPOVA D A, et al. Transcriptional control of human antigen R by bone morphogenetic protein [J]. *The Journal of biological chemistry*, 2010, 285(7): 4432–4440.
- [4]JIN H, CHEN Y, REN J, et al. TERC suppresses PD-L1 expression by downregulating RNA binding protein HuR [J]. *Science China Life sciences*, 2022, 65(12): 2505–2516.
- [5]MENG Z, KING P H, NABORS L B, et al. The ELAV RNA-stability factor HuR binds the 5'-untranslated region of the human IGF-IR transcript and differentially represses cap-dependent and IRES-mediated translation [J]. *Nucleic acids research*, 2005, 33(9): 2962–2979.
- [6]REGLERO C, LAFARGA V, RIVAS V, et al. GRK2-Dependent HuR Phosphorylation Regulates HIF1 $\alpha$  Activation under Hypoxia or Adrenergic Stress [J]. *Cancers*, 2020, 12(5):1216.
- [7]DAKS A, PETUKHOV A, FEDOROVA O, et al. The RNA-binding protein HuR is a novel target of Pirh2 E3 ubiquitin ligase [J]. *Cell death & disease*, 2021, 12(6): 581.
- [8]GUO T, DAI Z, YOU K, et al. S-adenosylmethionine upregulates the angiotensin receptor-binding protein ATRAP via the methylation of HuR in NAFLD [J]. *Cell death & disease*, 2021, 12(4): 306.
- [9]WANG W, SUN Z, DENG J, et al. [Integration and analysis of associated data in surgical treatment of gastric cancer based on multicenter, high volume databases] [J]. *Zhonghua wei chang wai ke za zhi = Chinese journal of gastrointestinal surgery*, 2016, 19(2): 179–185.
- [10]YANG F, HU A, LI D, et al. Circ-HuR suppresses HuR expression and gastric cancer progression by inhibiting CNBP transactivation [J]. *Molecular cancer*, 2019, 18(1): 158.
- [11]WU W, XU S, GUAN K, et al. 5-FU blocks shuttling of HuR mediated by PKC  $\delta$  in gastric cancer cells [J]. *Translational cancer research*, 2020, 9(8): 4790–4799.
- [12]LIU N, JIANG F, YE M, et al. HuR confers IL-17a-induced migration and invasion of gastric cancer cells via upregulation of Snail translation [J]. *Cytokine*, 2022, 153: 155830.