

Rab23 研究进展

唐利 刘博强 李承新[△]

(第四军医大学西京医院全军皮肤病研究所 陕西 西安 710032)

摘要 Rab23 为小 GTP 结合蛋白,是 Ras 超家族 Rab 家族成员,其突变可引起小鼠开脑综合征(open brain syndrome),因此又称为 opb 基因。它是 Sonic hedgehog 信号通路的负调控因子,在不同肿瘤中发挥不同作用,并参与机体组织器官的发育和分化。它可能通过转运细胞内蛋白发挥相关作用。

关键词 Rab23; Rab; Hedgehog 信号通路; Carpenter 综合征

中图分类号 Q51, Q75 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2012) 26-5192-03

Advances of Rab23

TANG Li, LIU Bo-qiang, LI Cheng-xin[△]

(Department of dermatology, Xijing Hospital, Forth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

ABSTRACT: Rab23, which is also called opb gene, belongs to the small GTPase superfamily, Rab family. The mutation of Rab23 can induce open brain syndrome of mice. It is an essential negative regulator of the sonic hedgehog signaling pathway. Rab 23 have recently been implicated in carcinogenesis, development and differentiation of tissue. The mechanism how Rab23 works may due to the trafficking of intracellular proteins.

Key words: Rab23; Rab; Hedgehog signaling pathway; Carpenter syndrome

Chinese Library Classification(CLC): Q51, Q75 **Document code:** A

Article ID:1673-6273 (2012) 26-5192-03

Rab23 是 RAS 原癌基因家族成员,定位于人染色体 6p11-6p12。其编码的蛋白是小 GTP 酶超家族 Rab 家族成员,其突变可引起小鼠开脑综合征(open brain syndrome)^[1],因此又称为 opb 基因。在成年小鼠的脑、乳腺、胃、精巢、卵巢等组织中也发现 Rab23 的表达,提示 Rab23 参与了成体组织器官功能的维持^[2]。1994 年,Olkkonen 等^[3]首次分离出 Rab23 全长 cDNA,并发现其主要表达于脑。2001 年,Eggenchwiler 等^[4]研究发现,Rab23 是 Sonic Hedgehog 信号通路必要的负调控因子,因为 Hedgehog 信号通路与胚胎发育、组织器官分化和肿瘤发生发展密切相关,因此 Rab23 引起学者们关注。其突变可导致人 Carpenter 综合征^[5],主要表现为颅缝早闭、多合指症、肥胖和心脏疾病。作为 Rab 家族成员之一,其可能具有其他 Rab 成员类似的转运功能。

1 Rab23 与转运

Rab 蛋白为小 GTP 结合蛋白,是 Ras 超家族中最大的亚家族。目前发现的 Rab 家族成员已有 70 多种,各成员间有相似的结构和功能。Rab 蛋白在囊泡运输的不同阶段发挥作用,通过募集马达分子到靶膜,调节细胞器或囊泡的转运^[6]。Evans 等^[7]用光学显微镜和免疫电子显微镜观察了绿色荧光蛋白(GFP)标记的不同类型 Rab23 在一系列哺乳动物细胞中的表达位置,发现野生型 Rab23 (Rab23-GFP) 和持续激活型 Rab23

(Rab23Q68L-GFP)主要表达于胞膜,但同样与细胞内囊泡样结构相关,而持续抑制型 Rab23 (Rab23S23N-GFP)主要表达于胞浆。他们同时发现野生型 Rab23 与参与囊泡转运的 Rab5 和转铁蛋白存在共定位,说明 Rab23 参与了囊泡转运。Smith 等^[8]发现,Rab23 和 Rab35 显性负性突变体抑制沙门氏菌吞噬体-溶酶体融合。Boehlke^[9]等研究发现,沉默 Rab23 或 Rab23 显性负向表达降低了纤毛的稳定状态,尤其是降低了 Smo 的转运,说明 Rab23 在维持纤毛的稳定和纤毛蛋白转换中发挥作用。

2 Rab23 与 Hedgehog 信号通路

2001 年,Eggenchwiler 等^[4]在小鼠开脑综合征(open brain syndrome)的研究中发现 Rab23 是 Sonic hedgehog 信号通路的负调控因子,对小鼠胚胎神经管背侧发育起重要作用。Shh 是 Hh 在人类的 3 个同源基因之一,Shh 为分泌型蛋白,与跨膜受体 Ptch 结合后,Ptch 构象改变,失去对其效应分子七次跨膜蛋白 Smo 的抑制作用,向细胞内传递信号,使抑制型转录因子 Gli3 失活,激活转录因子 Gli1 和 Gli2 入核启动靶基因的转录^[10,11]。Hh 信号通路对胚胎发育中的图示形成、多种器官和组织的定向分化及维持成体组织的内环境平衡起关键作用,并且参与多种肿瘤的发生发展^[12]。Eggenchwiler 等^[13]进一步研究证实,Rab23 在脊髓的图示发育神经细胞中作用于 Gli 转录因子上游,双突变分析表明,Rab23 作用于 Hh 信号通路的主要靶分子是 Gli2 激活子,对 Gli3 抑制子有另外的作用,但不通过 Patched 或 Smo,推测 Rab23 可能通过调节 Smo 下游、Gli 蛋白上游作用于 Hh 信号通路。另有研究显示,Rab23 能影响 Hh 信号通路受体 Smo 从纤毛向胞浆的回收^[9]。Evans 等^[7]发现 Rab23-GFP 与 patched 或 smoothened 共表达,细胞内 Rab23-GFP 与

作者简介 唐利(1986),女,硕士研究生,主要研究方向:皮肤鳞癌的分子机制,E-mail: tangli86515@163.com

△通讯作者 李承新,电话: 029-84775406-8302

E-mail: lchengxindem@163.com

(收稿日期: 2012-03-22 接受日期: 2012-04-17)

patched 定位重合而与 smoothed 不存在共定位,但是野生型和突变型 Rab23-GFP 并不影响 patched 或 smoothed 的分布,说明虽然 Rab23 与 patched 存在共定位,但是 Rab23 不直接通过 patched 或 smoothed 作用于 hedgehog 信号通路。但 Rab23 具体通过何种途径抑制 Hh 信号通路还不明确。

3 Rab23 与肿瘤

由于 Eggenschwiler 等^[4]的研究发现 Rab23 是 Sonic hedgehog 信号通路的负调控因子,因此 Rab23 开始被认为具有抑制肿瘤的作用。Rab23 Denning 等^[14]对一组分子进行基因表达分析,发现甲状腺癌恶性类型(滤泡状甲状腺癌、乳头状甲状腺癌和滤泡变异的乳头状甲状腺癌)中 Rab23 表达较良性类型(滤泡状腺瘤)低,推测 Rab23 作为 Hh 信号通路的负调控因子在甲状腺癌的发展中起作用。但作者未做进一步证实。有学者用 RT-PCR 在乳腺癌细胞系和正常乳腺细胞系中均发现 Rab23 表达,免疫荧光发现 Rab23 在乳腺癌细胞中定位于胞核周围的胞浆^[15]。在乳腺癌细胞系中采用质粒转染过表达和 RNA 干涉 Rab23 表达,通过克隆形成实验、BrdU 掺入实验、MTT 实验发现 Rab23 可抑制乳腺癌增殖^[16]。

然而,Rab23 作为一种原癌基因逐渐受到研究者关注。Huang 等^[17]通过免疫组化发现肺癌组织高表达 Rab23,定位于胞核,而正常肺脏组织不表达,将 myc 抗体标记的 Rab23 质粒转染鳞癌细胞系,进一步证实了肺癌中 Rab23 的核定位。Liu 等^[18]通过免疫组织化学和原位杂交技术发现,肝癌组织中 Rab23 为细胞核阳性,并且肿瘤尺寸越大,阳性率越高,而正常肝脏组织不表达 Rab23。对 Hep-3B 细胞 RNA 干涉后行 MTT 实验示肝癌细胞增殖能力下降,说明 Rab23 促进肝癌细胞增殖。Kim 等^[19]通过寡核苷酸晶片分析发现萎缩性胃炎和肠化生粘液中 Rab23 表达较正常胃粘膜高 10 倍,说明 Rab23 参与胃癌的早期发生过程。Hou 等^[20]通过免疫细胞化学发现,转移型胃癌细胞系(Hs746T)中 Rab23 较非转移型胃癌(KATOIII)显著高表达,并且胃癌组织免疫组织化学结果与细胞系结果一致。Hou 等人结合高分辨率阵列为基础的比较基因组杂交和基因表达分析鉴定 Rab23 为侵袭性胃癌的侵袭介导基因。对 Hs746T 细胞行 Rab23 特异的 RNA 干涉后迁移侵袭能力下降,然而对 AGS 细胞过表达 Rab23 后细胞侵袭能力增强。基因定量 PCR 显示侵袭能力强的胃癌细胞系 Rab23 基因拷贝数明显高于侵袭能力弱组,免疫组织化学显示 Rab23 在弥漫性胃癌中胞浆强阳性,而在肠型胃癌中不表达或弱阳性,在侵袭能力强的胃癌细胞系中胞浆强阳性,而在侵袭能力弱的细胞系中主要表达于胞膜和细胞内囊泡。但其促进侵袭的机制不明,作者推测不通过 SHH 通路,而通过其他的与肿瘤相关的通路。本课题组研究发现 Rab23 在皮肤鳞癌组织中胞浆强阳性,而正常皮肤不表达或弱表达,说明 Rab23 参与皮肤鳞癌的发生发展^[21]。

Rab23 在胃癌、乳腺癌和皮肤鳞癌中表达于胞浆,而在肺癌和肝癌中表达于胞核,在不同肿瘤中表达位置差异的具体机制还不明确,可能 Rab23 具有组织特异性,或者在细胞不同位置发挥不同的作用。其是否通过 hedgehog 信号通路对肿瘤起抑制作用,其对肿瘤的促进作用又该怎样解释,其具体机制还需进一步研究。

4 Rab23 与非肿瘤性疾病

4.1 Rab23 与 Carpenter 综合征

Rab23 突变在小鼠能引起开脑综合征,在人则引起 Carpenter 综合征。该综合征是常染色体隐性遗传,表现为颅缝早闭、多指畸形、肥胖和心脏疾病。此时 Rab23 的突变类型多是截断突变纯合子,最近也发现有单错义突变的杂合子和错义突变纯合子伴框内缺失突变^[22]。Eggenschwiler 等^[4]研究发现,Rab23 通过抑制 Sonic hedgehog 信号通路对脊髓背腹侧图式发育发挥作用。Rab23 突变与 Shh 突变在神经管发育中导致的畸形表现相拮抗,Rab23 对脊髓背侧细胞发育是必需的,而 Shh 对脊髓腹侧细胞发育是必需的,腹侧细胞在 Shh 突变时消失,而在 Rab23/Shh 双突变时可出现,说明 Rab23 突变可部分弥补 Shh 突变的表现,Rab23 负调控 Shh 信号通路。研究发现 Rab23 无义突变在开脑综合征小鼠中导致隐性胎儿死亡(伴神经管缺陷),而在人的 Carpenter 综合征中发现 Rab23 无义突变,说明 Rab23 突变在小鼠和人表现不尽相同,其作用有种属差异^[23]。

4.2 Rab23 与局灶性节段性肾小球硬化症(FSGS)

Huang 等^[24]发现 Rab23 和 Hh 信号通路分子在正常肾脏中表达,在局灶性节段性肾小球硬化症(FSGS)小鼠肾脏中表达上调,在肾小球系膜细胞 Rab23 表达明显上调,干涉或过表达 Rab23 后 FSGS 小鼠肾小球系膜细胞胶原合成相应增加或减少,说明 Rab23 升高可能抑制 Hedgehog 信号通路或/和影响胶原合成,更重要的是 Rab23 能作为检测 FSGS 严重度的生物标记。Huang 等^[25]对肾小球系膜细胞行 Rab23 特异性过表达和 RNA 干涉后,蛋白组学分析发现 Rab23 可能在 G 蛋白信号传导、转录调节、RNA 稳定、蛋白合成和降解、细胞骨架重建、抗氧化和抗毒性等方面起作用。

4.3 Rab23 与软骨发育

在小鼠开脑综合征中,Rab23 的突变也可引起中轴骨骼和四肢的畸形,肋骨畸形包括肋骨融合、叉状肋、肋骨空洞等;四肢畸形包括腓骨缩短、多指畸形等。在人类 Carpenter 综合征中表现的骨骼畸形包括颅缝早闭、指/趾缩短、多指/趾、身材矮小等,说明 Rab23 可能参与骨骼发育。Yang 等^[26]在软骨细胞 ATDC5 细胞系中发现,上调 Rab23 能抑制软骨细胞分化,伴随基质基因如 II 型胶原和聚集蛋白聚糖的表达下调。干涉 Rab23 后同样抑制了软骨分化,同时下调 Gli1 和 Sox9(软骨形成主要调节分子)表达,证实 Rab23 突变能引起软骨发育异常。

目前研究发现,Rab23 参与了机体组织器官发育分化和肿瘤发生发展。其作用具有种属及组织差异,具体原因仍不清楚。其对不同肿瘤的作用不同说明其机制可能不仅限于 Shh 信号通路,可能通过转运肿瘤相关蛋白分子发挥不同作用,是否参与到其他与肿瘤相关的信号通路还需进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Guo A, Wang T, Ng EL, et al. Open brain gene product Rab23: expression pattern in the adult mouse brain and functional characterization [J]. J Neurosci Res, 2006, 83(6): 1118-1127
- [2] 黄淑红, 杨凌, 谢国蕊, 等. Rab23 在小鼠不同器官中表达的研究 [J]. 山东大学学报(理学版), 2008, 43(1): 01-03
Huang Shu-hong, Yang ling, Xie Guo-rui, et al. The expression of the Rab23 protein in different organs of mice [J]. J Shandong University (Natural Science), 2008, 43(1): 01-03(In Chinese)
- [3] Olkkonen VM, Peterson JR, Dupree P, et al. Isolation of a mouse cDNA encoding Rab23, a small novel GTPase expressed predomi-

- tly in the brain [J]. Gene, 1994, 138(1-2): 207-211
- [4] Eggenschwiler JT, Espinoza E, Anderson KV. Rab23 is an essential negative regulator of the mouse Sonic hedgehog signalling pathway [J]. Nature, 2001, 412(6843): 194-198
- [5] Guo A, Wang T, Ng EL, et al. Open brain gene product Rab23: expression pattern in the adult mouse brain and functional characterization [J]. J Neurosci Res, 2006, 83(6): 1118-1127
- [6] 唐蓓. 囊泡转运中的 Rab 小 G 蛋白与马达分子 [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2008, 30(4): 462-466
Tang Bei. Rab Small GTPases and Motor Proteins in Vesicular Transport [J]. Chin J Cell Biol, 2008, 30(4): 462-466(In Chinese)
- [7] Evans TM, Ferguson C, Wainwright BJ, et al. Rab23, a negative regulator of hedgehog signaling, localizes to the plasma membrane and the endocytic pathway [J]. Traffic, 2003, 4(12): 869-884
- [8] Smith AC, Heo WD, Braun V, et al. A network of Rab GTPases controls phagosome maturation and is modulated by Salmonella enterica serovar Typhimurium [J]. J Cell Biol, 2007, 176(3): 263-268
- [9] Boehlke C, Bashkurov M, Buescher A, et al. Differential role of Rab proteins in ciliary trafficking: Rab23 regulates smoothened levels [J]. J Cell Sci, 2010, 123(pt 9): 1460-1467
- [10] Cohen, M.J. The hedgehog signaling network [J]. Am J Med Genet A, 2003, 123(1): 5-28
- [11] Stecca, B. and I.A.A. Ruiz, Brain as a paradigm of organ growth: Hedgehog-Gli signaling in neural stem cells and brain tumors [J]. J Neurobiol, 2005, 64(4): 476-490
- [12] Li C, Chi S, Xie J. Hedgehog signaling in skin cancers [J]. Cell Signal, 2011, 23(8): 1235-1243
- [13] Eggenschwiler JT, Bulgakov OV, Qin J, et al. Mouse Rab23 regulates hedgehog signaling from smoothened to Gli proteins [J]. Dev Biol, 2006, 290(1): 1-12
- [14] Denning KM, Smyth PC, Cahill SF, et al. A molecular expression signature distinguishing follicular lesions in thyroid carcinoma using preamplification RT-PCR in archival samples [J]. Mod Pathol, 2007, 20(10): 1095-10102
- [15] 曾超, 刘亚莉, 赵清波, 等. Rab23 分子在乳腺癌细胞中的表达及意义 [J]. 医学研究生学报, 2010, 23(4): 352-356
Zeng Chao, Liu Ya-li, Zhao Qing-bo, et al. Expression of Rab23 in breast cancer cell lines and its significance [J]. J Med Postgrad, 2010, 23(4): 352-356(In Chinese)
- [16] 曾超, 刘亚莉, 胡玉珍, 等. Rab23 对乳腺癌细胞生长增殖的抑制作用 [J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(20): 3811-3815
Zeng Chao, Liu Ya-li, Hu Yu-zhen, et al. Inhibitory effect of Rab23 on growth and proliferation of breast cancer cells [J]. Progress Modern Biomedicine, 2009, 9(20): 3811-3815(In Chinese)
- [17] Huang S, Yang L, An Y, et al. Expression of hedgehog signaling molecules in lung cancer [J]. Acta Histochem, 2011, 113(5): 564-569
- [18] Liu YJ, Wang Q, Li W, et al. Rab23 is a potential biological target for treating hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(7): 1010-1017
- [19] Kim KR, Oh SY, Park UC, et al. Gene expression profiling using oligonucleotide microarray in atrophic gastritis and intestinal metaplasia [J]. Korean J Gastroenterol, 2007, 49(4): 209-224
- [20] Hou Q, Wu YH, Grabsch H, et al. Integrative genomics identifies RAB23 as an invasion mediator gene in diffuse-type gastric cancer [J]. Cancer Res, 2008, 68(12): 4623-4630
- [21] 刘博强, 唐利, 简强, 等. Rab23 在皮肤鳞状细胞癌中的表达 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(3): 2474-2476
Liu Bo-qiang, Tang Li, Jian Qiang, et al. Expression and Significance of Rab23 in Squamous Cell Carcinoma of Skin [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2011, 11(3): 2474-2476(In Chinese)
- [22] Jenkins D, Baynam G, De Cate L, et al. Carpenter syndrome: extended RAB23 mutation spectrum and analysis of nonsense-mediated mRNA decay [J]. Hum Mutat, 2011, 32(4): 2069-2078
- [23] Jenkins D, Seelow D, Jehee FS, et al. RAB23 mutations in Carpenter syndrome imply an unexpected role for hedgehog signaling in cranial-suture development and obesity [J]. Am J Hum Genet, 2007, 80(6): 1162-1170
- [24] Huang TH, Shui HA, Ka SM, et al. Rab 23 is expressed in the glomerulus and plays a role in the development of focal segmental glomerulosclerosis [J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(3): 743-754
- [25] Huang TH, Ka SM, Hsu YJ, et al. Rab23 plays a role in the pathophysiology of mesangial cells - A proteomic analysis [J]. Proteomics, 2010, 11(3): 380-394
- [26] Yang L, Clinton JM, Blackburn ML, et al. Rab23 regulates differentiation of ATDC5 chondroprogenitor cells [J]. J Biol Chem, 2008, 283(16): 10649-10657

更正声明

《现代生物医学进展》第 12 卷第 24 期第 4738 页, 由张晔, 李范, 王孝宁, 闫雷, 刘云鹏撰写的文章《肿瘤学生物信息资源检索及其应用》由国家自然科学基金项目 (30901730) 辽宁省教育厅科研项目 (L2010641) 资助。

特此声明。

《现代生物医学进展》编辑部