

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2021.09.11

· 综述 ·

Rac1 在食管鳞状细胞癌中的研究进展

郭丽媛¹, 张金业² (1. 南通大学医学院, 江苏南通 226001; 2. 南通大学附属肿瘤医院检验科, 江苏南通 226001)

摘要: Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1, Rac1) 是 Rho 家族成员之一。Rac1 异常表达和活性激活可参与多种细胞过程, 如细胞-细胞或细胞-底物黏附、迁移、侵袭、增殖、转录、囊泡形成和凋亡等。Rac1 基因和蛋白质以及活性的检测技术也在不断进步。多项研究表明, Rac1 在食管鳞状细胞癌 (食管鳞癌) 中呈高表达, 并促进食管鳞癌的发生、发展及远处转移。该文就 Rac1 在近年来食管鳞癌中的研究进展作一综述, 以为食管鳞癌的早期诊断和治疗提供新的思路。

关键词: Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1; 食管鳞状细胞癌; 诊断; 治疗

中图分类号: R446

文献标志码: A

食管癌具有高发病率、高致死率的特征, 是临床上常见的恶性肿瘤之一^[1]。从组织学类型上, 食管癌可分为食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 和食管腺癌 (esophageal adenocarcinoma, EAC)。尽管食管癌的治疗方法不断进步, 但依据癌症中心数据显示, 食管癌 5 年生存率仅为 20%^[2]。目前临床上 ESCC 尚未有明确的分子靶向药物, 因此, 需进一步寻找更有效的肿瘤标志物以实现早诊断、早治疗, 降低患者死亡率。Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1, Rac1) 作为 Rho 家族成员之一, 是一种鸟嘌呤核苷酸激活蛋白 (GTP) 酶^[3]。研究表明, Rac1 在乳腺癌、肝癌和肺癌等肿瘤中呈高表达, 且与预后不良有关, 可作为有效的治疗靶点^[4-6]。近年来研究发现, Rac1 在 ESCC 中呈高表达, 并与 ESCC 的发生、发展和转移密切相关^[7]。本文就 Rac1 在 ESCC 发生、发展和转移过程中的分子调控机制、Rac1 基因的检测技术以及临床治疗中的应用作一综述。

1 Rac1 的结构及功能

Rac1 基因位于人染色体 7p22, 含有 7 个外显子和 3 个内含子。该基因编码的蛋白质是 GTP 酶 (GTPase), 属于小 GTP 结合蛋白 Ras 超家族^[8]。该超家族的成员调控着一系列不同的细胞事件进程, 包括控制细胞生长、细胞骨架重组和蛋白激酶的激活等。Rac1 蛋白包括核苷酸结合位点、开关一、开关二、多碱基区和 C-末端膜靶向区域 5 个结构域, 任意 1 个出现错义突变即可导致肿瘤的发生。Rac1 有 2 种存在形式, 分别为可被鸟嘌呤核苷酸交换因子激活至 GTP 结合状态, 以及被 GTPase 失活至 GDP 结合状态。在其 GTP 结合状态下, 在多种细胞互相作用的过程 (如细胞的生长、转移、侵袭、凋亡、周期调控和细胞骨架重组等) 中起着重要作用^[9]。Rac1 及其细胞信号网络可对肿瘤产生以下 5 种作用: 抗凋亡、促增殖、转移相关的上皮-间质转化 (Epithelial-mesenchymal transition, EMT)、癌症干细胞和促血

管生成。

2 Rac1 检测技术的研究进展

研究表明, Rac1 表达的量及活性均影响肿瘤的发生、发展。因此, Rac1 的早期检测可为肿瘤的诊治提供重要的临床应用价值。

2.1 Rac1 蛋白和基因表达的检测技术 主要包括: 实时荧光定量 RT-PCR (real-time quantitative PCR, qRT-PCR)、免疫组织化学染色 (immunohistochemistry, IHC)、蛋白质免疫印迹 (western blot) 技术以及免疫荧光技术 (immunofluorescence, IF)。IHC、western blot、IF 都是利用抗原抗体反应对基因进行定量或定位的检测手段, 检测方法较简单, 特异性高, 定位准确, 但对仪器的要求比较高。例如, Yang 等^[7]采用 RT-PCR、western blot 和 IHC 技术发现 Rac1 在 ESCC 组织中的蛋白质及基因水平的表达上调, 并且证实了 Rac1 的高表达与肿瘤的侵犯深度、淋巴结转移和低存活率相关。Yuan 等^[10]采用 IF 技术证实了 Rac1 在 ESCC 细胞中主要定位于细胞质, 并发现 Rac1 越聚集在细胞膜前缘, 则肿瘤细胞的迁移能力越强。对 Rac1 检测定量分析最准确的检测方法是 qRT-PCR, 该技术的灵敏度高、准确性强, 但 qRT-PCR 结果的影响因素很多, 如重复洗涤、离心、纯化等步骤均可造成相当数量的核酸损失。目前开发的基于液滴的数字 PCR (dPCR) 技术可避免上述缺陷, 在 dPCR 中, 样品被稀释, 每个单独的分区包含不超过 1 个目标序列, dPCR 提供了绝对值和可分析的定量数据, 极大地提高了稀有序列检测的灵敏度、特异性, 克服了肿瘤细胞低核酸的缺点^[11]。目前国内尚未见采用 dPCR 检测 ESCC 患者 Rac1 表达的研究报道。尚需更深层次研究, 为在早期阶段检测肿瘤标志物提供实验依据。

2.2 Rac1 活性的检测技术 谷胱甘肽巯基转移酶下拉法 (Glutathione-S-transferase pull down assay, GST pull down assay) 是目前临床上常用的检测 Rac1 活性的方法。GTS-pull

作者简介: 郭丽媛, 1996 年, 女, 硕士研究生, 研究方向: 临床检验诊断学。

通信作者: 张金业, 主任技师, 硕士研究生导师, E-mail: JYKzjy@126.com。

down 法主要利用某些蛋白质的结构域能够与 GTP-Rac1 相结合的特性,构建出该结构域的 GST 融合蛋白,通过 GST-pull down 方法富集激活形式的 Rac1,并且能够动态反映细胞内 Rac1 的活性变化,具有较高的准确性和特异性,但偶尔会出现假阳性结果^[12]。Yuan 等^[10]采用 GTS-pull down 法检测 Rac1 在 ESCC 组织中的活性,证实 Rac1 活性越高,迁移能力则越强。其进一步研究发现,Rac1 与肿瘤的进展呈正相关,且在发生肿瘤转移的患者中,Rac1 的表达水平比未发生转移患者明显升高,且预后较差。但由于现有检测技术的限制,尚未见在外周血中能检测 Rac1 的活性变化的报道。因此,还需进一步深入研究 Rac1 活性的检测技术及临床应用价值。

3 Rac1 与 ESCC 的发生、发展及转移

3.1 Rac1 促进 ESCC 发生、发展和转移 Rac1 蛋白高表达与 *Rac1* 基因突变及活性异常有关。有学者发现,Rac1 突变体的形成及其上游分子异常启动可使活性增强,从而启动一系列信号通路,导致肿瘤的发生、发展^[13]。另有研究表明,小 GTPase Rac1 参与了 F-肌动蛋白和黏着斑动力学,导致肌动蛋白在前沿聚合产生突起,过度激活的 Rac1 可增强细胞迁移^[14]。肌动蛋白细胞骨架动态组装成丝状体和微梭形结构启动了细胞迁移,Rac1 的表达和激活可促进此进程。此外,EMT 与肿瘤的转移密切相关。目前研究表明,Rac1 与 EMT 关系密切,Rac1 可通过以下几种途径实现 EMT,从而促进肿瘤的转移,包括:其上游效应物过表达/过活性(生长因子);下游效应物激活 P21 活化蛋白激酶(p21-activated kinases,PAK);Rac1 活性增加;间接变异体(如 Rac1b)表达;上调 Wnt/ β -连环蛋白途径;激活转录激活因子 3;促进肌动蛋白细胞骨架片状足形成;促进活性氧类(reactive oxygen species,ROS)产物形成及应激反应蛋白(如 p38)的激活^[9]。通过以上机制,Rac1 不仅促进肿瘤细胞的生长、发展,也促进了肿瘤的转移。

3.2 Rac1 促进 ESCC 转移的信号通路 有学者发现,一种新的天然大环内酯 F806 可下调 Rho 家族(CDC42、Rac1)的表达和活性,从而中断 F-肌动蛋白迁移成分的组装,抑制癌症的侵袭和转移^[15]。另有研究发现,在 ESCC 中,Rac1 的表达受趋化因子基质细胞衍生因子-1 的趋化因子受体(C-X-C motif chemokine receptor 4,CXCR4)的调节,敲低 *CXCR4* 可显著抑制 AKT 和 ERK 的磷酸化以降低 Rac1 蛋白的水平,从而抑制肿瘤细胞的侵袭和迁移^[16-17]。研究证实,微小核糖核酸(miRNA)在细胞增殖、细胞生长、凋亡、DNA 修复、侵袭、血管生成、转移和耐药中均具有重要作用^[18]。Ma 等^[19]研究发现,MicroRNA-92b 在 ESCC 中呈高表达,且与淋巴结转移呈负相关,其进一步证实 MicroRNA-92b 可通过抑制整合素 αV 的表达发挥其抑制功能,降低了磷酸化黏着斑激酶和 Rac1 的激活,从而影响侵袭与迁移。Tanabe 等^[20]通过免疫组织化学证实,Rac1 的活性受丝状蛋白 C(filamin C,FLNC)的调节,FLNC 在 ESCC 中的表达与淋巴侵袭、转移和预后有关,FLNC 可激活 Rac1,使细胞侵袭、迁移能力增强。Wen-Jian 等^[21]发现,在 ESCC 中,*14-3-3 ϵ* 基因与 T 淋

巴瘤侵袭转移诱导因子 1 的结合可促进 Rac1 的激活。Wang 等^[22]发现,球姜酮(Zerumbon,ZER)可通过促进 Rac1 泛素化,导致 Rac1 的降解,抑制 ESCC 的迁移。以上研究证实,Rac1 对 ESCC 的影响主要为上游分子导致 Rac1 的激活或表达增加,从而促进肿瘤转移,如若 Rac1 降解,则对肿瘤的进程产生抑制作用。

4 Rac1 在抗肿瘤治疗中的应用

研究表明,Rac1 抑制剂在抗肿瘤的疗效评价中具有较高的临床应用价值,针对 Rac1 的放化疗方案、靶向治疗及免疫治疗均取得了较好的疗效^[23]。Rac1 抑制可逆转乳腺癌的顺铂耐药^[24];在非小细胞肺癌中,Rac1 诱导的 EMT 与增强的癌细胞迁移和侵袭相关,并与放疗抵抗密切相关^[25];对于靶向治疗,Rac1 的激活可增加肺癌对吉非替尼的耐药性^[26]。此外,研究表明,抑制 Rac1 能够阻碍肿瘤细胞的免疫逃逸^[27]。由此可见,Rac1 抑制剂在肿瘤治疗中具有重要的临床应用价值。Xu 等^[28]发现,整合素 $\beta 1$ 通过调节 FAK-Rac1 信号通路促进细胞活性,并下调 ESCC 细胞对顺铂的敏感性,表明整合素 $\beta 1$ 可作为 ESCC 治疗靶点。笔者推测,阻断 Rac1 信号通道的传导可增强 ESCC 对顺铂的敏感性,但尚需进一步的临床研究证实。

5 小结及展望

RAC1 广泛表达于肿瘤细胞中,Rac1 的突变与活性异常在 ESCC 的发生、发展及转移中发挥重要的作用。随着检测技术的不断进步,目前已开发出多种技术用于 Rac1 的表达及活性的检测,但仍需要研发新型检测技术以提高 Rac1 的检出率,为早期诊断和早期治疗提供新的依据。通过研究 Rac1 的结构、功能及其调控的信号通路,有望为 ESCC 分子靶向药物治疗提供新途径。因此,对 Rac1 进行更深层次的认识及靶向调控的研究,可为新型抗肿瘤靶向药物的开发提供重要的实验依据,为 ESCC 的临床治疗提供更多的选择,为改善肿瘤患者病情及提高存活率带来新希望。

6 参考文献

- [1] Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, *et al.* Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018; GLOBOCAN sources and methods[J]. Int J Cancer, 2019, 144(8): 1941-1953.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [3] Payapilly A, Malliri A. Compartmentalisation of RAC1 signalling[J]. Curr Opin Cell Biol, 2018, 54: 50-56.
- [4] Butera A, Cassandri M, Rugolo F, *et al.* The ZNF750-RAC1 axis as potential prognostic factor for breast cancer[J]. Cell Death Discov, 2020, 6(1): 135.
- [5] Bayo J, Fiore EJ, Dominguez LM, *et al.* Bioinformatic analysis of RHO family of GTPases identifies RAC1 pharmacological inhibition as a new therapeutic strategy for hepatocellular carcinoma[J]. Gut, 2021, 70(7): 1362-1374.
- [6] Tan SM, Yi P, Wang HR, *et al.* Corrigendum: RAC1 involves in the radioresistance by mediating epithelial-mesenchymal transition in

- lung cancer[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1106.
- [7] Yang Q, Luo GY, Li Y, *et al*. Expression of Rac-1 related to tumor depth, lymph node metastasis and patient prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(4): 689.
- [8] Cannon AC, Uribe-Alvarez C, Chernoff J. RAC1 as a therapeutic target in malignant melanoma[J]. *Trends Cancer*, 2020, 6(6): 478-488.
- [9] De P, Rozeboom BJ, Aske JC, *et al*. Active RAC1 promotes tumorigenic phenotypes and therapy resistance in solid tumors[J]. *Cancers*, 2020, 12(6): 1541.
- [10] Yuan X, Wang X, Gu B, *et al*. Directional migration in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) is epigenetically regulated by SET nuclear oncogene, a member of the inhibitor of histone acetyltransferase complex[J]. *Neoplasia*, 2017, 19(11): 868-884.
- [11] Perkins G, Lu H, Garlan F, *et al*. Droplet-based digital PCR: application in cancer research[J]. *Adv Clin Chem*, 2017, 79: 43-91.
- [12] 甄诚, 陈亮, 柏兆方, 等. 基于 GST-pull down 的小 G 蛋白 Rac1 活性检测体系的建立[J]. *生物技术通讯*, 2011, 22(4): 540-543.
- [13] Uribe-Alvarez C, Guerrero-Rodríguez SL, Rhodes J, *et al*. Targeting effector pathways in RAC1P29S-driven malignant melanoma[J]. *Small GTPases*, 2021, 12(4): 273-281.
- [14] Tamborindeguy MT, Matte BF, Ramos GO, *et al*. NADPH-oxidase-derived ROS alters cell migration by modulating adhesions dynamics[J]. *Biol Cell*, 2018, 110(10): 225-236.
- [15] Xie L, Li LY, Zheng D, *et al*. F806 suppresses the invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma via downregulating F-actin assembly-related rho family proteins[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 2049313.
- [16] Lin ML, Lu YC, Chen HY, *et al*. Suppressing the formation of lipid raft-associated Rac1/PI3K/Akt signaling complexes by curcumin inhibits SDF-1 α -induced invasion of human esophageal carcinoma cells[J]. *Mol Carcinog*, 2014, 53(5): 360-379.
- [17] Guo J, Yu X, Gu J, *et al*. Regulation of CXCR4/AKT-signaling-induced cell invasion and tumor metastasis by RhoA, Rac-1, and Cdc42 in human esophageal cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(5): 6371-6378.
- [18] Inoue J, Inazawa J. Cancer-associated miRNAs and their therapeutic potential[J]. *J Hum Genet*, 2021, 66(9): 937-945.
- [19] Ma G, Jing C, Li L, *et al*. MicroRNA-92b represses invasion-metastasis cascade of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(15): 20209-20222.
- [20] Tanabe K, Shinsato Y, Furukawa T, *et al*. Filamin C promotes lymphatic invasion and lymphatic metastasis and increases cell motility by regulating Rho GTPase in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(4): 6353-6363.
- [21] Wen-Jian Y, Song T, Jun T, *et al*. NF45 promotes esophageal squamous carcinoma cell invasion by increasing Rac1 activity through 14-3-3 ϵ protein[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 663: 101-108.
- [22] Wang M, Niu J, Gao L, *et al*. Zerumbone inhibits migration in ESCC via promoting Rac1 ubiquitination[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2447-2455.
- [23] Cardama GA, Alonso DF, Gonzalez N, *et al*. Relevance of small GTPase Rac1 pathway in drug and radio-resistance mechanisms: Opportunities in cancer therapeutics[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 124: 29-36.
- [24] Li Q, Qin T, Bi Z, *et al*. Rac1 activates non-oxidative pentose phosphate pathway to induce chemoresistance of breast cancer[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1456.
- [25] Tan S, Yi P, Wang H, *et al*. RAC1 involves in the radioresistance by mediating epithelial-mesenchymal transition in lung cancer[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 649.
- [26] Liu WW, Hu J, Wang R, *et al*. Cytoplasmic P120ctn promotes gefitinib resistance in lung cancer cells by activating PAK1 and ERK pathway[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2021.
- [27] Araiza-Olivera D, Feng Y, Semenova G, *et al*. Suppression of RAC1-driven malignant melanoma by group A PAK inhibitors[J]. *Oncogene*, 2018, 37(7): 944-952.
- [28] Xu Z, Zou L, Ma G, *et al*. Integrin β 1 is a critical effector in promoting metastasis and chemo-resistance of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(3): 531-542.

(收稿日期:2021-03-15)

(本文编辑:许晓蒙)