

内质网整合膜蛋白SEC62研究进展

廖志权^{1,2}, 张瑞^{1,2*}, 唐景峰^{1,2*}

¹湖北工业大学生物工程与食品学院生物医药系/生物医药研究院, 武汉 430068;

²湖北工业大学国家细胞调控与分子药物“111”引智基地, 武汉 430068)

摘要: 内质网是真核细胞内蛋白质加工的必要场所, 经过加工的蛋白质才能在内质网中驻留或转运至高尔基体。如果内质网中蛋白质未能正确折叠与运输, 内质网内就会累积大量蛋白质, 造成内质网应激。SEC62在维持蛋白质稳态中扮演重要作用, 它是由399个氨基酸残基组成的内质网跨膜蛋白, 能够参与真核细胞中分泌蛋白及膜结合蛋白的翻译后易位, 也能够与SEC61通道结合调控内质网中的钙稳态, 并在内质网应激恢复过程中被显著激活来维持内质网体积和大小。本文系统地阐述了SEC62的功能、调节的信号通路, 及其在包括病毒复制和多种癌症等疾病中的作用及意义, 基于这些研究结果可能将SEC62作为抗病毒治疗及肿瘤精确诊断、治疗的新靶点, 为新药物的开发提供新思路。

关键词: SEC62; 翻译后易位; 病毒复制; 癌症

Research progress of endoplasmic reticulum integrated membrane protein SEC62

LIAO Zhiquan^{1,2}, ZHANG Rui^{1,2*}, TANG Jingfeng^{1,2*}

¹Department of Biomedicine/Institute of Biomedicine, College of Bioengineering and Food Science, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China; ²National “111” Research Center for Cell Regulation and Molecular Drugs, Hubei

University of Technology, Wuhan 430068, China)

Abstract: Endoplasmic reticulum (ER) is an essential site for protein processing in eukaryotic cells so that processed proteins can reside in ER or be transported to Golgi. If proteins in the ER are not properly folded and transported, a large number of proteins can accumulate in the ER, causing ER stress. SEC62, an endoplasmic reticulum transmembrane protein composed of 399 amino acid residues, plays an important role in maintaining protein homeostasis, participates in the post-translational translocation of secreted proteins and membrane-bound proteins in eukaryotic cells, also can bind with SEC61 channel to regulate calcium homeostasis in endoplasmic reticulum, and is significantly activated during ER stress recovery to maintain ER volume and size. This paper systematically expounds the function of SEC62, the regulated signal pathway, and its role and significance in diseases including virus replication and various cancers. Based on these research results, SEC62 may be used as a new target for antiviral therapy and accurate diagnosis and treatment of tumors, providing new ideas for the development of new drugs.

Key Words: SEC62; post-translational translocation; virus replication; cancer

收稿日期: 2022-10-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(32000523, 32070726); 湖北省科技厅自然科学基金项目(2020CFB413)

第一作者: E-mail: liaozhiquan1031@163.com

*通信作者: 张瑞, E-mail: zhangrui1987@hbut.edu.cn; 唐景峰, E-mail: tangjingfeng@hbut.edu.cn

内质网是真核细胞内调节钙稳态、蛋白质合成、加工及运输十分重要的细胞器。虽然大部分蛋白质的合成场所在核糖体,但有些蛋白质在合成后需要经过内质网、高尔基体的加工才能完成,而这些蛋白质前体进入内质网需要转运蛋白的辅助。人细胞中内质网膜的运输需要SEC61、SEC62、SEC63这3个转运蛋白的参与,它们在帮助新合成的蛋白质前体易位到内质网过程中发挥至关重要的作用^[1]。特别是近些年,研究发现,SEC62能够通过胞质端EF手基序与Ca²⁺结合,与SEC61通道直接相互作用调节内质网中钙稳态,而沉默SEC62或使用钙调蛋白抑制剂三氟拉嗪(trifluoperazine, TFP)能够增强细胞对Ca²⁺失调诱导的内质网应激敏感性^[2];并确定SEC62是一种内质网自噬新受体,能够与自噬体膜上的LC3蛋白结合,促进自噬体与溶酶体融合,SEC62在内质网应激恢复阶段被显著激活,从而启动自噬来清除细胞中受损、老化的大分子或者细胞器,维持内质网体积和大小^[3]。SEC62在细胞内信号转导通路中也发挥至关重要的作用:SEC62通过与 β -catenin蛋白结合,使其在细胞核中过度聚集,从而激活Wnt下游靶基因^[4];SEC62能促进IRE1 α 磷酸化活性来激活IRE1 α -C-Jun氨基末端激酶(c-jun N-terminal kinase, JNK)通路参与自噬过程,从而抑制口蹄疫病毒(foot-and-mouth disease virus, FMDV)复制^[5]。此外,SEC62蛋白的高表达显著影响多种恶性肿瘤的发生、发展及不良预后过程,虽然部分研究阐述了SEC62蛋白在肝癌^[6]、结直肠癌^[4]、胃癌^[7]等发病机制中的作用,有望将SEC62蛋白作为人类癌症的分子生物标志物和治疗靶点,但SEC62蛋白在其他癌症发展过程中的分子机制和调控途径仍有待进一步研究,且目前国内尚未系统发表SEC62相关综述文章。因此,本文以SEC62功能为出发点,针对SEC62在病毒复制及多种肿瘤细胞中发挥作用的具体机制进行总结,并尝试阐明将SEC62蛋白作为抗病毒和癌症潜在治疗靶点的可能性,为进一步研究提供参考。

1 SEC62概述

SEC62又称Dtrp1或TLOC1,相对分子质量为46 000,由399个氨基酸组成。人SEC62基因位于

3q26.2号染色体上。SEC62蛋白分布非常广泛,在甲状腺、前列腺、膀胱、子宫、肺、乳腺等人体组织中均有表达,尤其是肾脏中表达水平最高。SEC62蛋白是哺乳动物内质网质膜上SEC61/SEC62/SEC63转运复合体的重要组成成分,同时也是内质网自噬受体之一^[8]。通过生物信息学、核磁共振光谱、计算建模、共聚焦和免疫电子显微镜、CRISPR/Cas9和质谱等分子细胞生物学技术分析,发现SEC62呈“V”型结构:具有两个跨膜结构域(transmembrane domain, TM)和一个微管相关蛋白I轻链3相互作用结构域(LC3-interacting region, LIR)(图1A),并且通过两个跨膜结构域整合到内质网膜中^[9](图1B)。其中,SEC62可以通过其N端的一簇碱性氨基酸与SEC63发生相互作用,但这簇碱性氨基酸被酸性氨基酸替代时,它们的相互作用会减弱;同时,SEC62第二个跨膜结构域的胞质C末端区域存在潜在的信号序列SS结合位点^[10,11];第二个跨膜结构域之后紧跟一个锚定区域,它是平躺在膜上的椭圆形结构域,由30个氨基酸内的约20个残基长的保守片段形成,并且其富含疏水性,通过实验也证明疏水性对于其与内质网膜的结合作用至关重要,这就说明SEC62是通过此锚定区域与SEC61通道结合^[12];SEC62羧基端存在的LIR在多细胞动物中高度保守,通过此基序能够与自噬受体蛋白LC3相互作用^[13],并且此基序对于内质网恢复性自噬是必要的,在内质网应激后它能够将多余的内质网片段特异性地传递到自噬体,从而使内质网腔内环境处于稳定状态,但对于蛋白质转运无明显影响^[8]。

2 SEC62的生物学功能

2.1 介导蛋白质翻译后易位

蛋白质的易位对于细胞发挥正常功能至关重要,易位过程受阻会导致癌症、人类遗传性疾病等多种疾病发生^[14]。分泌蛋白的易位方式有两种,一种是需要信号识别颗粒(signal recognition particle, SRP)的共翻译易位,另一种是由于蛋白信号序列的疏水性较差或长度不够不能被胞质中的SRP识别,从而需要胞质中Hsp40和Hsp70等分子伴侣引导蛋白至内质网上的翻译后易位^[15]。在真核生物中,分泌蛋白通过SEC62通道进入内质

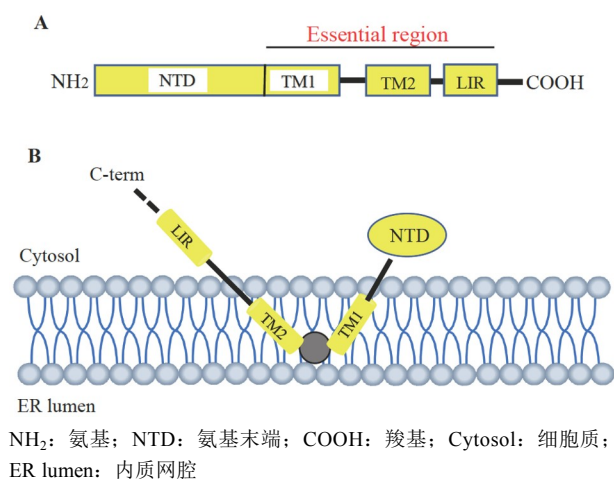


图1 SEC62蛋白结构示意图

网, 但此过程需要SEC61通道与两种必须的整合膜蛋白SEC62、SEC63结合形成SEC复合物, 这会使通道侧门开口变得更大, 促进分泌蛋白从分子伴侣转移到SEC复合转运体上, 从而完成翻译后易位^[16]。翻译后易位分为如下阶段: (1)细胞质中核糖体合成多肽链, 之后伴侣蛋白如Hsp40、Hsp70与多肽链结合并使多肽链连接到内质网膜上; (2)多肽链的N端信号序列会进入SEC61通道, 并且在此通道内会破坏信号序列与信号肽酶的结合; (3)最后通过内质网内部分子伴侣如BiP将多肽链送入内质网进行折叠与修饰加工。SEC62-TM2和SEC61 α -TM7构象的改变对于信号序列的切割、释放十分重要, SEC62也会阻止信号序列从SEC61通道侧门释放出来或抑制信号肽酶进入切割位点。此外, 脂质会从内质网腔小叶进入易位孔中, 从而影响底物多肽进入通道阻碍蛋白质易位, SEC62能够阻止脂质的进入来保护SEC61通道发挥正常功能^[1,12]。近些年对SEC62在蛋白质翻译后易位过程中发挥的作用进行的研究较多。Lakkaraju等^[17]发现, RNA干扰会损害SRP途径并降低细胞中SEC62的表达水平, 而哺乳动物细胞中, 由100~160个氨基酸组成且具有N末端信号序列的翻译后易位小蛋白, 它的前体会依赖SEC62进行转运。Bhadra等^[18]研究发现, 在体内外, *Sec62*与*Sec63*等位基因的突变会影响不依赖于SRP蛋白型的翻译后易位蛋白的转运, 表明蛋白质的易位方式是由信号序列决定的。Lang等^[19]研究发现, 沉默人类*SEC62*基因之后, 会使小的分泌蛋白经过翻译后易位到内质网

的效率大幅降低, 而不影响锚定蛋白的膜插入能力及在拓扑形成中的作用。

2.2 钙稳态

内质网中钙离子流出是内质网应激的关键特征, 对人的生命活动十分重要。Linxweiler等^[20]研究发现, 过表达*SEC62*不影响内质网中Ca²⁺流出与HeLa细胞增殖, 但沉默*SEC62*或过表达缺失Ca²⁺结合基序的*SEC62*_{D308A}突变体会使细胞溶质中Ca²⁺增加, 降低HeLa细胞增殖速度并增强细胞对Ca²⁺诱导的内质网应激的敏感性, 还能增强内质网应激药物毒胡萝卜素(thapsigargin, TG)诱导的内质网中Ca²⁺的流出。该研究还发现, TFP和SEC62均可能通过与SEC61 α 直接相互作用从而减少内质网中Ca²⁺的流出, 并且确定这一作用是通过SEC62的C末端结构域中EF手基序与SEC61 α 的N末端16个氨基酸残基介导的。这凸显了*Sec62*的Ca²⁺结合基序对内质网中Ca²⁺稳态的关键作用, 以及沉默*SEC62*和使用TFP能够增强细胞对Ca²⁺失调诱导的内质网应激敏感性^[2]。

2.3 自噬

SEC62是哺乳动物细胞中已知的8种内质网自噬受体之一, 通过其C末端一个保守的LIR基序识别货物与自噬体膜上LC3结合, 促进自噬体与溶酶体融合。SEC62在环吡唑酸(cyclopiazonic acid, CPA)或二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)诱导的内质网应激恢复过程中被显著激活, 会将特定的内质网片段运送至自溶酶体中进行清除, 从而维持内质网的体积和大小, 这一过程称为恢复自噬; 并且SEC62介导这一过程需要ESCRT-III亚基多泡体蛋白4B及ATP酶VPS4A辅助从而参与膜修复、重塑和断裂^[21,22]。此外, Su等^[23]发现, 胃癌细胞中, SEC62可能通过未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)相关的PERK/转录激活因子4(activating transcription factor 4, ATF4)通路和UPR恢复过程中LC3 II的结合来激活自噬, 且FIP200/Beclin-1/Atg5蛋白表达水平升高, 这表明SEC62表达水平升高与自噬增强呈正相关。

3 SEC62介导的信号通路

3.1 Wnt/ β -catenin信号通路

根据细胞内 β -catenin蛋白是否参与, 通常将Wnt信号通路分为经典的 β -catenin依赖型和非经典

的 β -catenin非依赖型两大类^[24]。 β -catenin是经典的Wnt信号通路的核心蛋白，Wnt蛋白是刺激经典Wnt信号通路的重要细胞内配体。当不存在Wnt配体时，该通路呈关闭状态，此时细胞质中的 β -catenin会被包括酪蛋白激酶1(casein kinase1, CK1)、糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、结肠腺瘤样息肉病基因蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)、支架蛋白(Axin)在内的降解复合体降解。当存在Wnt配体时，Wnt配体首先会与细胞膜上的低密度脂蛋白受体相关蛋白-5或-6(low density lipoprotein receptor related protein -5 or -6, LRP5/6)受体结合从而激活该通路，但此时细胞质内的 β -catenin不会被CK1、GSK-3 β 等激酶磷酸化，导致其在细胞质中累积并大量入核，在细胞核内结合并激活T细胞因子(T-cell factor, TCF)/淋巴增强因子结合因子(lymphoid enhancer-binding factor, LEF)家族，从而调节Wnt下游靶基因的表达^[25,26]。

Liu等^[4]研究发现，SEC62在结直肠癌细胞和体外均与 β -catenin存在相互作用。敲除SEC62降低了Wnt下游靶基因AXIN2、LGR5和MYC的表达；敲低SEC62显著降低了 β -catenin蛋白水平，但不影响其在DLD1、HT29和LOVO细胞中的mRNA水平，而加入蛋白酶体抑制剂MG132之后逆转了这一作用，说明SEC62抑制了蛋白酶体介导的 β -catenin降解。同时，作者发现SEC62能够抑制APC和 β -catenin的结合，从而保护 β -catenin免于降解。此外，利用动物模型也进一步辅助验证了SEC62对Wnt/ β -catenin信号通路的调控作用。过表达SEC62能够促进小鼠移植瘤的生长、上调AXIN2和LGR5的mRNA水平，而SEC62DA突变体则没有这一作用(图2)。因此，这些结果综合表明，SEC62能够作为结直肠癌中 β -catenin的关键激活剂，通过与 β -catenin结合进而激活Wnt/ β -catenin信号通路。

3.2 IRE1 α -JNK 信号通路

IRE1 α 是一种内质网中驻留的跨膜蛋白，包含胞质激酶结构域和RNase结构域。JNK作为丝裂原活化蛋白激酶家族的重要成员之一，是促进细胞凋亡的晚期内质网应激反应的一部分，JNK不仅介导细胞凋亡途径，还可以在在某些内质网应激条件下诱导坏死^[27]。在内质网应激过程中，激活的

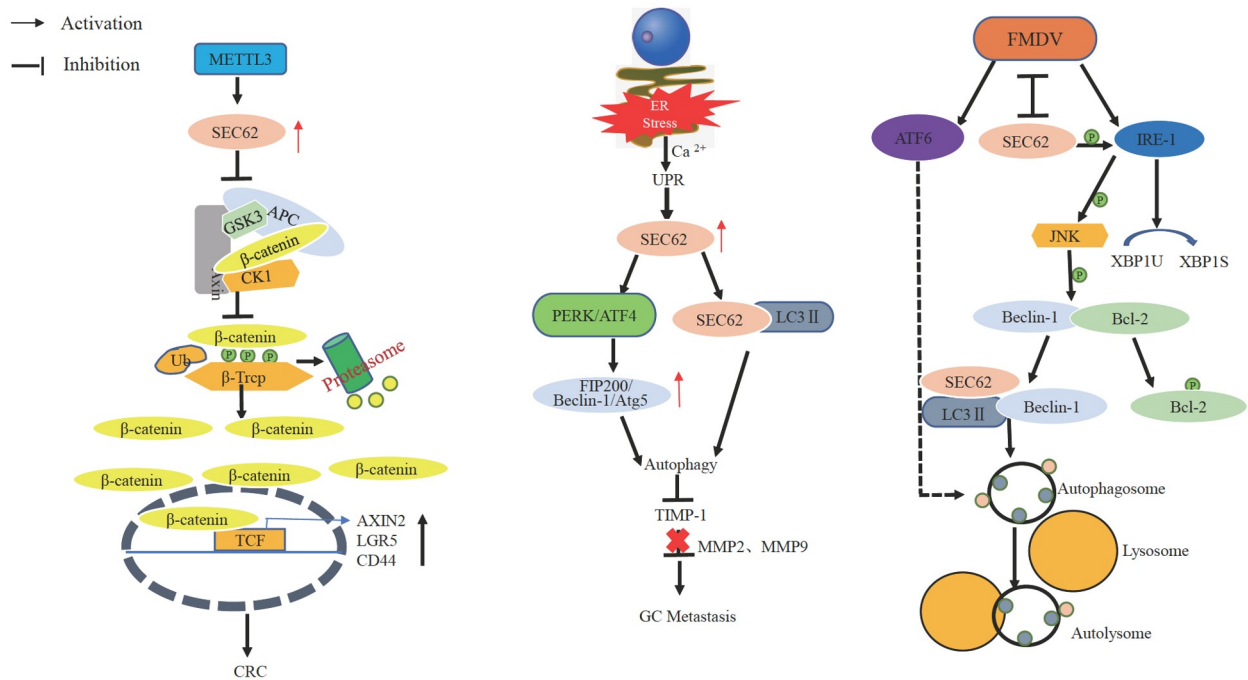
IRE1 α 会与肿瘤坏死因子受体相关因子2(tnf receptor associated factor 2, TRAF2)及凋亡信号调节激酶1(apoptosis signal regulating kinase-1, ASK1)形成复合物，从而将JNK磷酸化^[28,29]。JNK调控Bcl-2的磷酸化会使Beclin-1从Beclin-1/Bcl-2复合物中解离出来，形成Vps34-Beclin-1复合物，从而促进隔离膜的成核^[30]。IRE1 α 还可以激活应激激酶JNK的下游信号传导以促进自噬^[31]。但Wu等^[5]研究发现，IRE1 α 的过表达仅增强了JNK的表达水平，而不能通过激活IRE1 α -JNK信号通路来诱导IRE1 α 和JNK的磷酸化。表明IRE1 α -JNK 通路的激活需要一种激酶。

Han等^[32]发现，在FMDV感染的两种细胞系中过表达SEC62可以使IRE1 α 的表达水平稳定。表明SEC62在IRE1 α -JNK通路中起主要作用。对其作用机制进行研究，Wu等^[5]发现，过表达SEC62之后，FMDV感染的猪肾PK-15细胞中FMDV蛋白和病毒滴度明显降低，而LC3-II的转化增强；反之，在敲低SEC62的细胞中得到相反的结果。这表明SEC62通过激活IRE1 α -JNK信号通路负调控FMDV增殖参与自噬体的形成过程。因此，综合来看，SEC62能够作为抗病毒治疗的潜在靶点。

4 SEC62的生理意义

4.1 SEC62与病毒复制

内质网是蛋白质合成、加工及运输必不可少的细胞器，因此许多病毒能够借助这些特性，通过抑制蛋白质的折叠能力或直接破坏内质网的结构和功能来诱导内质网应激及内质网应激反应介导的自噬，从而促进病毒复制及发病^[33]。FMDV感染会引起偶蹄类动物患急性传染病，是世界经济上最重要、传染性最强的兽医病原体，近年来对世界范围内畜牧业养殖造成极大损失^[34,35]。虽然通过动物捕杀及接种各种预防性疫苗能基本控制口蹄疫的爆发，但仍需找到更加安全有效的治疗方法来应对未来病毒感染^[36]。为了维持体内平衡，宿主细胞会激活保护内质网的过程，包括内质网腔中错误蛋白聚集引发UPR，从而减轻内质网应激或诱导干扰素(interferon, IFN)信号通路激活先天性抗病毒免疫反应恢复平衡^[37]。Han等^[32]发现，在仓鼠肾细胞BHK-21和猪肾细胞PK-15中感染FMDV



METTL3: 甲基化转移酶; β -Tcrp: β -转导重复相容蛋白; Ub: 泛素分子; Proteasome: 蛋白酶体; CRC: 结直肠癌; ER Stress: 内质网应激; Autophagy: 自噬; TIMP-1: 基质金属蛋白酶抑制剂1; MMP2/9: 基质金属蛋白酶2/9; GC: 胃癌; Metastasis: 转移; Bcl2: B细胞淋巴瘤/白血病2基因(抗凋亡蛋白); Autophagosome: 自噬体; Lysosome: 溶酶体; Autolysosome: 自噬溶酶体

图2 SEC62具体作用分子机制示意图

能够激活PERK和ATF6信号传导, 而通过降低IRE1 α 表达水平可以抑制IRE1 α -XBP1信号, 这表明IRE1 α 信号转导是一种有潜力的抗FMDV病毒先天免疫机制。之后过表达或敲除UPR下游IRE1、PERK、ATF6这3个基因, 发现IRE1 α 只在PK-15细胞中抑制FMDV增殖, 而FMDV感染后期SEC62表达水平会显著降低。此外, 对于FMDV感染的这两种细胞系, 过表达SEC62会使IRE1 α 表达及磷酸化水平稳定。同时PK-15细胞中RIG-I信号增强, BHK-21细胞中RIG-I信号缺失。总的来说, SEC62通过调控IRE1 α -RIG-I-IFN- β 信号来抑制FMDV增殖。Wu等^[5]认为, SEC62是内质网膜相关自噬受体, 能够参与调节内质网应激和自噬之间的平衡来影响FMDV的复制。结果表明, FMDV能够通过UPR的ATF6通路激活自噬, 同时SEC62能促进IRE1 α 磷酸化活性来激活IRE1 α -JNK通路参与自噬过程从而影响FMDV复制; 此外, SEC62作为一种新的自噬受体, 与自噬体标记蛋白LC3及溶酶体相关膜蛋白LAMP1均存在共定位(图2)。这表明SEC62能够通过招募自噬体并将其运送至溶酶体进行降解从而缓解内质网应激和抑制FMDV复制。总

的来说, SEC62与内质网应激、自噬及FMDV复制之间的联系得到详细阐述, 并且将SEC62依赖性内质网自噬与FMDV病毒复制作用联系起来作为抗FMDV病毒治疗的新靶点。由于SEC62能够作为病毒复制的抑制剂, 过表达或防止其受到FMDV介导的沉默是抗FMDV病毒干预的可行策略。

4.2 SEC62与癌症

SEC62最初在结直肠癌中被发现为致癌基因^[38]。近些年来, 多项研究表明, 多种恶性肿瘤中伴随着SEC62的高表达, 包括肝癌、胃癌、皮肤癌、宫颈癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌和非小细胞肺癌等^[39-54]。

4.2.1 SEC62与肝癌

肝癌是全球范围内患者致死率排名第二的常见癌症, 并且肝癌患者生存率低是手术后两年内复发率高导致的^[39]。与正常的人体组织相比, HCC组织中SEC62的蛋白水平与mRNA的表达水平均显著升高; 并且肝切除术后, 在肝脏组织和外周单个核细胞中SEC62的高表达可以作为肝癌复发的危险指标之一, 研究者通过免疫组化分析发现, 与周围组织相比, 在肝癌复发患者中SEC62的

表达水平更高^[40]。这表明SEC62的高表达与肝癌的不良预后显著正相关。同时,通过外源过表达SEC62显著促进了Huh7细胞的迁移和侵袭,而敲低SEC62极大阻断了Huh7细胞的迁移和侵袭^[41]。这说明SEC62与肝癌细胞的迁移、侵袭能力显著正相关,这对于肿瘤的术后复发和转移至关重要。Meng等^[6]研究发现,SEC62的下调使纤溶酶原激活物抑制剂1型(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)和肿瘤坏死因子受体超家族成员11B(tnf receptor superfamily member 11b, TNFRSF11B)的表达水平降低;反之,过表达SEC62也可得到相同结论。此外,敲低SEC62会通过PAI-1抑制缺氧诱导的血管形成。这暗示SEC62能够通过PAI-1促进缺氧条件下HCC的促血管生成,并且它可能是HCC患者中重要的血管生成开关。

这些结果表明,SEC62可作为潜在的临床医疗诊断中肝癌的标志物,在临床治疗中能够当作诊断或者预后指示因子。更重要的是,给出了SEC62与HCC细胞迁移、侵袭相关性的具体分子机制,即能够通过靶向整合素 α /CAV1信号传导途径促进HCC复发和转移,还能够影响肝癌转移和复发的血管生成。并且提示,PAI-1可能是一种很有研究潜力的SEC62调控基因,但SEC62对于通过调控PAI-1促进血管生成的作用机制还需要进一步的研究。

4.2.2 SEC62与胃癌

胃癌是全球最常见的消化系统恶性肿瘤^[42]。He等^[7]对胃癌患者组织样本分析发现,SEC62表达上调并且在胃癌细胞系中高表达,敲低SEC62降低了胃癌细胞的增殖速率、促进了癌细胞凋亡。这表明SEC62能够正向调节胃癌的发生及进展。同时,作者首次证实,miR-4429能够靶向METTL3从而促进m⁶A引起的SEC62降解来阻碍胃癌的发展。SEC62对于胃癌细胞的迁移、侵袭也具有重要作用。Su等^[23]发现,在体内外过表达SEC62会通过影响TIMP-1和MMP2/9平衡来促进胃癌细胞的迁移及侵袭能力。此外,该研究还发现SEC62一方面能够使PERK/ATF4表达量上调;另一方面能够与LC3结合同时使FIP200/Beclin-1/Atg5的表达上调(图2)。

这些结果表明,SEC62参与促进胃癌的发生,验证了SEC62能够作为治疗胃癌的治疗靶点。

并揭示了SEC62在胃癌中具体的作用机制——SEC62表达不仅会使TIMP-1和MMP2/9失衡促进胃癌的发展,还能参与调控未折叠蛋白反应UPR相关的PERK/ATF4通路,以及UPR恢复过程中与LC3的结合,激活FIP200/Beclin-1/Atg5从而激活自噬过程促进胃癌的发展。

4.2.3 SEC62与皮肤癌

非典型纤维黄瘤(atypical fibroxanthoma, AFX)是一种十分罕见的皮肤肿瘤,此肿瘤好发于长期暴露在阳光下的高龄人群,目前对其的研究寥寥无几^[43]。Müller等^[44]将41例AFX患者病灶组织与周围健康组织相比较,发现SEC62表达水平显著上升,表明SEC62参与了AFX的发生,但其在AFX中的促癌作用机制仍需进一步研究。黑色素瘤是一种病死率极高的皮肤原发性恶性肿瘤^[45]。Müller等^[46]研究表明,对于黑色素瘤患者,SEC62的表达量高导致总生存期和无进展生存期缩短,并且SEC62的表达水平与淋巴结以及远处转移的发展显著相关。头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)是一种发病率逐年递增、多见于头颈部位的恶性肿瘤^[46]。Wemmert等^[47]最先通过免疫组化观察到HNSCC患者中SEC62的表达水平升高,然后对接受过CRT治疗的35名晚期HNSCC患者的临床病理数据分析表明,SEC62表达量高总伴随着头颈部鳞状细胞癌患者的总生存期和无进展生存期较差。此外,Bochen等^[48]发现,与原发肿瘤相比,HNSCC患者的淋巴结转移中SEC62有更高的表达水平,这表明SEC62的高表达能够刺激HNSCC的淋巴转移;并且过表达SEC62能够增强UM-SCC1细胞的迁移能力,干扰SEC62则得到相反结果,但对细胞增殖没有影响。

这些结果表明,SEC62能够参与这三种皮肤癌的发生、发展和预后过程,可能是这三种皮肤癌的致癌基因,说明SEC62有望作为潜在的临床治疗靶点,但具体的分子机制仍需在未来进行更加深入的研究。

4.2.4 SEC62与其他癌症

3q26经常在宫颈癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌和非小细胞肺癌等多种癌症中扩增,这是基因组改变的常见原因,并且与不良预后及侵袭

相关^[49]。

Linxweiler等^[50]发现, 在子宫发育不良患者样本中, SEC62蛋白表达水平显著升高, 通过荧光原位杂交和免疫荧光实验分析表明, 细胞SEC62的表达水平与浸润性癌症发病率及宫颈发育不良严重程度呈正相关, 且干扰SEC62表达能够抑制宫颈癌细胞的迁移。同时, 还能通过TFP减弱SEC62在细胞钙稳态中的作用降低宫颈癌细胞的迁移能力^[20]。Ki67作为成熟的细胞增殖标志物, 开发SEC62/Ki67双染色检测方法检测宫颈液基细胞学标本中高度不典型增生和癌症, 也能够为其他液体细胞学样本中高级别鳞状细胞病变和评估癌症进展提供便捷有效的辅助诊断工具^[51]。

Jung等^[52]发现, SEC62在22例前列腺癌样本中的基因拷贝数高达50%, 在人两种前列腺癌细胞系中, SEC62蛋白表达量增加, 而在PC3中, SEC62的mRNA含量增加。临床意义上来讲, SEC62基因拷贝数增加的患者前列腺切除术后进展风险较低、时间较长, 但其在前列腺癌发生发展过程中的发挥的作用仍有待研究。

Takacs等^[53]发现, 与同一患者的无肿瘤组织样本相比, 肿瘤组织中SEC62蛋白表达水平较高, 在SEC62高表达的乳腺癌患者中更容易发生远处淋巴结转移, 与总生存期差明显相关。这表明SEC62的表达能够作为浸润性乳腺癌患者预测生物标志物。

Linxweiler等^[54]发现, 在肺癌晚期病例中SEC62表达升高, 且mRNA及蛋白质水平显著增加, 而SEC62表达水平高与淋巴结转移和肿瘤分化相关。此外, 体外迁移实验表明, 在肺癌细胞中, SEC62的高表达能够明显刺激迁移, 并通过抑制其对内质网应激的敏感性来增强肺癌细胞的增殖速度。

4.2.5 SEC62能够作为肿瘤治疗的潜在靶点

癌症干细胞相关的化疗耐药会导致CRC患者化疗失败及肿瘤复发^[55,56]。Liu等^[4]表明, SEC62的过表达会激活Wnt/ β -catenin信号通路, 加强CRC细胞干性并降低其对于化疗药物的敏感程度。分子机制上, METTL3通过m⁶A依赖性的方式使SEC62 mRNA稳定, 从而上调CRC中SEC62的表达, 接着SEC62通过抑制 β -catenin复合物的组装增强Wnt信号通路来促进CRC的干性和化学抗性, 确定了m⁶A

修饰-SEC62- β -catenin轴作为CRC组织耐药性、干性及肿瘤中潜在的治疗新靶点。利用小siRNA调节蛋白质的表达已广泛应用于癌症治疗^[57], 通过转染siRNA降低肿瘤细胞中SEC62蛋白含量来抑制肿瘤细胞迁移能力, 并通过增强对内质网应激的敏感性来抑制肿瘤细胞增殖速度。Linxweiler等^[54]发现, 相较于腺癌, 鳞状细胞癌中SEC62的mRNA和蛋白质水平增加频率更高, 表明SEC62靶向治疗适用于鳞状细胞癌患者, 能够开发治疗鳞状细胞癌患者的新策略, 填补只局限于对腺癌患者治疗的分子疗法空缺。TG或TG类似物这些能诱导UPR反应的药物有望成为有效治疗癌症的新方法。Greiner等^[58]发现, 经过TG处理, PC3、LNCaP细胞凋亡、死亡率增加, 并且通过转染siRNA干扰SEC62后会导致TG处理的PC3细胞活力进一步降低, 同时伴随着胞质中Ca²⁺浓度的增加, 这表明SEC62蛋白含量的改变能够影响Ca²⁺稳态, 从而影响细胞对TG诱导的内质网应激的反应, 可能会影响TG类似物治疗前列腺癌患者的成功率。SEC62过表达的肿瘤对这种治疗具有很强的耐药性, 用靶向SEC62的siRNA处理SEC62过表达的肿瘤细胞之后, 显示出对TG的耐药性及迁移电位的降低。Körbel等^[59]使用TFP模拟siRNA发挥抑制SEC62过度产生效应, 证明TG和TFP联合治疗能够减少小鼠中接种下咽鳞状细胞癌FaDu诱导的异位肿瘤的影响, 使肿瘤细胞的转移和生长速度显著降低, 并且这两种物质的联合使用有效浓度没有诱导毒性的作用。表明TFP未来能够成为治疗肿瘤患者中SEC62过度产生的新策略。参与药物反应的不同蛋白质相互作用很重要, 但由于SEC62在各种肿瘤组织中的表达有差异性, 所以还需根据不同肿瘤中SEC62的含量进行个体化针对性的治疗。

5 展望

近些年来, SEC62蛋白因其功能的多样性如最先作为内质网中前体蛋白的辅助转运因子为人们熟知, 之后发现其也能调控内质网中的钙稳态、内质网应激过程, 并作为新的内质网自噬受体蛋白受到人们的广泛关注。虽然目前已经初步了解SEC62蛋白结构、在多种信号通路以及在人体包括病毒复制和癌症等多种疾病中的调控机制,

也研究出了一些治疗方法及药物,并在小鼠模型中进行了验证,但在临床上仍需要进行个体化针对性治疗。因此,SEC62在不同疾病及更多信号通路中的潜在机制仍有待发掘,进而为未来新药物的开发提供思路。

参考文献

- [1] Linxweiler M, Schick B, Zimmermann R. Let's talk about Secs: Sec61, Sec62 and Sec63 in signal transduction, oncology and personalized medicine. *Sig Transduct Target Ther*, 2017, 2(1): 17002
- [2] Körner S, Pick T, Bochen F, et al. Antagonizing Sec62 function in intracellular Ca^{2+} homeostasis represents a novel therapeutic strategy for head and neck cancer. *Front Physiol*, 2022, 13: 880004
- [3] Bergmann TJ, Fumagalli F, Loi M, et al. Role of SEC62 in ER maintenance: a link with ER stress tolerance in SEC62-overexpressing tumors? *Mol Cell Oncol*, 2017, 4(2): e1264351
- [4] Liu X, Su K, Sun X, et al. Sec62 promotes stemness and chemoresistance of human colorectal cancer through activating Wnt/ β -catenin pathway. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 132
- [5] Wu J', Zhang Z, Teng Z, et al. Sec62 regulates endoplasmic reticulum stress and autophagy balance to affect foot-and-mouth disease virus replication. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 707107
- [6] Meng Y, Zhao H, Zhao Z, et al. Sec62 promotes pro-angiogenesis of hepatocellular carcinoma cells under hypoxia. *Cell Biochem Biophys*, 2021, 79(4): 747-755
- [7] He H, Wu W, Sun Z, et al. MiR-4429 prevented gastric cancer progression through targeting METTL3 to inhibit m⁶A-caused stabilization of SEC62. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 517(4): 581-587
- [8] Fumagalli F, Noack J, Bergmann TJ, et al. Translocon component Sec62 acts in endoplasmic reticulum turnover during stress recovery. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(11): 1173-1184
- [9] Deshaies RJ, Schekman R. SEC62 encodes a putative membrane protein required for protein translocation into the yeast endoplasmic reticulum. *J Cell Biol*, 1989, 109(6): 2653-2664
- [10] Lyman SK, Schekman R. Binding of secretory precursor polypeptides to a translocon subcomplex is regulated by BiP. *Cell*, 1997, 88(1): 85-96
- [11] Dünwald M, Varshavsky A, Johnsson N. Detection of transient in vivo interactions between substrate and transporter during protein translocation into the endoplasmic reticulum. *Mol Biol Cell*, 1999, 10(2): 329-344
- [12] Itskanov S, Kuo KM, Gumbart JC, et al. Stepwise gating of the Sec61 protein-conducting channel by Sec63 and Sec62. *Nat Struct Mol Biol*, 2021, 28(2): 162-172
- [13] Mizushima N. A dual binding receptor for ER-phagy. *Dev Cell*, 2018, 44(2): 133-135
- [14] Gemmer M, Förster F. A clearer picture of the ER translocon complex. *J Cell Sci*, 2020, 133(3): jcs231340
- [15] Rapoport TA, Li L, Park E. Structural and mechanistic insights into protein translocation. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2017, 33(1): 369-390
- [16] Meyer HA, Grau H, Kraft R, et al. Mammalian Sec61 is associated with Sec62 and Sec63. *J Biol Chem*, 2000, 275(19): 14550-14557
- [17] Lakkaraju AK, Thankappan R, Mary C, et al. Efficient secretion of small proteins in mammalian cells relies on Sec62-dependent posttranslational translocation. *Mol Biol Cell*, 2012, 23(14): 2712-2722
- [18] Bhadra P, Yadhanapudi L, Römisch K, et al. How does Sec63 affect the conformation of Sec61 in yeast? *PLoS Comput Biol*, 2021, 17(3): e1008855
- [19] Lang S, Benedix J, Fedeles SV, et al. Differential effects of Sec61 α , Sec62 and Sec63 depletion on transport of polypeptides into the endoplasmic reticulum of mammalian cells. *J Cell Sci*, 2012, 2012(Pt 8): 1958
- [20] Linxweiler M, Schorr S, Schäuble N, et al. Targeting cell migration and the endoplasmic reticulum stress response with calmodulin antagonists: a clinically tested small molecule phenocopy of SEC62 gene silencing in human tumor cells. *BMC Cancer*, 2013, 13(1): 574
- [21] Zhou H, Wang K, Wang M, et al. ER-phagy in the occurrence and development of cancer. *Biomedicines*, 2022, 10(3): 707
- [22] Loi M, Raimondi A, Morone D, et al. ESCRT-III-driven piecemeal micro-ER-phagy remodels the ER during recovery from ER stress. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5058
- [23] Su S, Shi YT, Chu Y, et al. Sec62 promotes gastric cancer metastasis through mediating UPR-induced autophagy activation. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(2): 133
- [24] Pulkkinen K, Murugan S, Vainio S. Wnt signaling in kidney development and disease. *Organogenesis*, 2008, 4(2): 55-59
- [25] Sharma A, Mir R, Galande S. Epigenetic regulation of the wnt/ β -Catenin signaling pathway in cancer. *Front Genet*, 2021, 12: 681053
- [26] Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -Catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. *Cell*, 2017, 169(6): 985-999
- [27] Saveljeva S, Mc Laughlin SL, Vandenabeele P, et al. Endoplasmic reticulum stress induces ligand-independent

- TNFR1-mediated necroptosis in L929 cells. *Cell Death Dis*, 2015, 6(1): e1587
- [28] Ron D, Hubbard SR. How IRE1 reacts to ER stress. *Cell*, 2008, 132(1): 24-26
- [29] Gardner BM, Walter P. Unfolded proteins are Ire1-activating ligands that directly induce the unfolded protein response. *Science*, 2011, 333(6051): 1891-1894
- [30] Pattingre S, Tassa A, Qu X, et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell*, 2005, 122(6): 927-939
- [31] Song S, Tan J, Miao Y, et al. Crosstalk of ER stress-mediated autophagy and ER-phagy: Involvement of UPR and the core autophagy machinery. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5): 3867-3874
- [32] Han S, Mao L, Liao Y, et al. Sec62 suppresses foot-and-mouth disease virus proliferation by promotion of IRE1 α -RIG-I antiviral signaling. *J Immunol*, 2019, 203(2): 429-440
- [33] Lee YR, Kuo SH, Lin CY, et al. Dengue virus-induced ER stress is required for autophagy activation, viral replication, and pathogenesis both *in vitro* and *in vivo*. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 489
- [34] Rodríguez Pulido M, Sáiz M. Molecular mechanisms of foot-and-mouth disease virus targeting the host antiviral response. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017, 7: 252
- [35] Dong H, Liu P, Bai M, et al. Structural and molecular basis for foot-and-mouth disease virus neutralization by two potent protective antibodies. *Protein Cell*, 2022, 13(6): 446-453
- [36] Abdullah SW, Han S, Wu J, et al. The DDX23 negatively regulates translation and replication of foot-and-mouth disease virus and is degraded by 3C Proteinase. *Viruses*, 2020, 12(12): 1348
- [37] Yang X, Srivastava R, Howell SH, et al. Activation of autophagy by unfolded proteins during endoplasmic reticulum stress. *Plant J*, 2016, 85(1): 83-95
- [38] Eschrich S, Yang I, Bloom G, et al. Molecular staging for survival prediction of colorectal cancer patients. *J Clin Oncol*, 2005, 23(15): 3526-3535
- [39] Bertuccio P, Turati F, Carioli G, et al. Global trends and predictions in hepatocellular carcinoma mortality. *J Hepatol*, 2017, 67(2): 302-309
- [40] Casper M, Linxweiler M, Linxweiler J, et al. SEC62-SEC63 and Expression in Hepatocellular Carcinoma and Tumor-Surrounding Liver Tissue. *Visc Med*, 2021, 37(2): 110-115
- [41] Du J, Zhao Z, Zhao H, et al. Sec62 promotes early recurrence of hepatocellular carcinoma through activating integrin α /CAV1 signalling. *Oncogenesis*, 2019, 8(12): 74
- [42] Machlowska J, Baj J, Sitarz M, et al. Gastric cancer: Epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4012
- [43] Koch M, Freundl AJ, Agaimy A, et al. Atypical fibroxanthoma-histological diagnosis, immunohistochemical markers and concepts of therapy. *Anticancer Res*, 2015, 35(11): 5717-5735
- [44] Müller C, Kreie L, Bochen F, et al. Expression of 3q oncogene SEC62 in atypical fibroxanthoma-immunohistochemical analysis of 41 cases and correlation with clinical, viral and histopathologic features. *Oncol Lett*, 2019, 17(2): 1768-1776
- [45] Patel H, Yacoub N, Mishra R, et al. Current advances in the treatment of bRAF-mutant melanoma. *Cancers*, 2020, 12(2): 482
- [46] Müller CSL, Pföhler C, Wahl M, et al. Expression of SEC62 oncogene in benign, malignant and borderline melanocytic tumors—unmasking the wolf in sheep's clothing? *Cancers*, 2021, 13(7): 1645
- [47] Wemmert S, Lindner Y, Linxweiler J, et al. Initial evidence for Sec62 as a prognostic marker in advanced head and neck squamous cell carcinoma. *Oncol Lett*, 2016, 11(3): 1661-1670
- [48] Bochen F, Adisurya H, Wemmert S, et al. Effect of 3q oncogenes SEC62 and SOX2 on lymphatic metastasis and clinical outcome of head and neck squamous cell carcinomas. *Oncotarget*, 2017, 8(3): 4922-4934
- [49] Hagerstrand D, Tong A, Schumacher SE, et al. Systematic interrogation of 3q26 identifies TLOC1 and SKIL as cancer drivers. *Cancer Discov*, 2013, 3(9): 1044-1057
- [50] Linxweiler M, Bochen F, Schick B, et al. Identification of SEC62 as a potential marker for 3q amplification and cellular migration in dysplastic cervical lesions. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 676
- [51] Takacs FZ, Radosa JC, Bohle RM, et al. Sec62/Ki67 dual staining in cervical cytology specimens: a new marker for high-grade dysplasia. *Arch Gynecol Obstet*, 2019, 299(2): 481-488
- [52] Jung V, Kindich R, Kamradt J, et al. Genomic and Expression Analysis of the 3q25-q26 Amplification Unit Reveals TLOC1/SEC62 as a Probable Target Gene in Prostate Cancer. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(3): 169-176
- [53] Takacs FZ, Radosa JC, Linxweiler M, et al. Identification of 3q oncogene SEC62 as a marker for distant metastasis and poor clinical outcome in invasive ductal breast cancer. *Arch Gynecol Obstet*, 2019, 299(5): 1405-1413
- [54] Linxweiler M, Linxweiler J, Barth M, et al. Sec62 bridges the gap from 3q amplification to molecular cell biology in non-small cell lung cancer. *Am J Pathol*, 2012, 180(2): 473-483

- [55] Ramos EK, Hoffmann AD, Gerson SL, et al. New opportunities and challenges to defeat cancer stem cells. [Trends Cancer](#), 2017, 3(11): 780-796
- [56] Wang J, Xing Y, Wang Y, et al. A novel BMI-1 inhibitor QW24 for the treatment of stem-like colorectal cancer. [J Exp Clin Cancer Res](#), 2019, 38(1): 422
- [57] Christie RJ, Nishiyama N, Kataoka K. Delivering the code: polyplex carriers for deoxyribonucleic acid and ribonucleic acid interference therapies. [Endocrinology](#), 2010, 151(2): 466-473
- [58] Greiner M, Kreutzer B, Lang S, et al. Sec62 protein level is crucial for the ER stress tolerance of prostate cancer. [Prostate](#), 2011, 71(10): 1074-1083
- [59] Körbel C, Linxweiler M, Bochen F, et al. Treatment of SEC62 over-expressing tumors by Thapsigargin and Trifluoperazine. [Biomol Concepts](#), 2018, 9(1): 53-63