

Menin 蛋白的生物学功能研究进展

华红伟¹综述,丁 罡²审校

(1.上海交通大学医学院,上海 200025;

2.上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院,上海 202150)

摘要:Menin 蛋白是 MEN1 基因的表达产物,MEN1 是多发性内分泌肿瘤 1 型综合征(multiple endocrine neoplasia type 1,MEN1)的关键致病基因之一。menin 在细胞核中与其他关键转录因子相互作用,直接参与组蛋白甲基化修饰等基因表达调控过程。此外,menin 在基因组稳定、细胞分裂增殖及细胞周期调控中都发挥着重要的作用,在肿瘤的发生和发展中扮演着重要的角色。全文对 menin 蛋白的生物学功能进展进行综述。

关键词:menin 蛋白;MEN1;生物学功能

中图分类号:R730.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2013)08-0656-05

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2013.08.A010

Research Progress of the Biological Function in Menin

HUA Hong-wei¹,DING Gang²

(1.Shanghai Jiao Tong University School of Medicine,Shanghai 200025,China;2.Chongming Branch of Xinhua Hospital,School of Medicine,Shanghai Jiao Tong University,Shanghai 202150,China)

Abstract:Menin is a protein encoded by the gene multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1),which is the predominant cause for hereditary MEN1 syndrome. Menin plays various biological roles: Menin interact with other key transcription factor in the nucleus,directly involved in histone methylation and gene expression regulation process. In addition,menin plays an important role in genome stability,cell proliferation and cell cycle regulation.It is closely related to carcinogenesis and develop of the tumor. This paper reviews the progress of biological function of Menin protein.

Key words:Menin protein; MEN1; biological function

Menin 蛋白为多发性内分泌肿瘤 1 型(multiple endocrine neoplasia type 1,MEN1)基因的表达产物,MEN1 基因是位于染色体 11q13 位点的抑癌基因,该基因突变是多种内分泌组织肿瘤发生的原因,如:甲状旁腺瘤、肾上腺瘤、垂体瘤等^[1]。menin 蛋白在机体中表现为多种生物学功能,在细胞核中 menin 与其他关键转录因子相互作用,直接参与组蛋白甲基化修饰等基因表达调控过程;menin 与大量涉及基因组稳定的蛋白相互作用,影响基因组的稳定。此外,menin 还参与细胞分裂增殖和细胞周期调控等过程,影响胚胎的生长发育,与肿瘤的发生发展有密切的联系^[2]。现对 menin 蛋白的生物学功能研究进展作初步阐述。

收稿日期:2013-03-08;修回日期:2013-05-09

通讯作者:丁罡,E-mail: ddinggang@hotmail.com

1 Menin 的分子结构

1.1 Menin 编码基因及分布

Menin 是 MEN1 基因的表达产物,分子量为 67kD,由 610 个氨基酸组成。人类 MEN1 基因分布于 11q13 染色体区域^[3],编码大小为 2.8kb 左右的 mRNA。MEN1 基因主要分布于细胞核中,在细胞质和端粒附近有较少的分布^[4],其外显子和内显子具有良性多态性表现。

Menin 蛋白的原始结构与先前研究已识别的蛋白不同,这为其生物学功能的认识提供了较少的线索。MEN1 编码的 mRNA 广泛存在于组织和细胞中,但 MEN1 在不同组织中的表达水平有所不同,menin 在各种属之间的差异主要集中于肽链的 C 末端。

Menin 是一种进化保守蛋白,它存在于多种有脊椎动物和无脊椎动物包括果蝇和蜗牛中,但在酵母中和线虫类动物中尚未发现同源蛋白^[5,6]。

1.2 Menin 的功能区

有研究发现,在 menin 的 C 末端至少存在两个独立的功能区,这些氨基酸序列与 menin 的核定位有关^[7]。单独的核定位序列(nuclear localization signal,NLS)能够充分作用于 menin 的核中心靶点区。同时切除 NLS1 和 NLS2 未能完全阻止核内置换,这提示在 menin 中还存在另外的 NLS^[8,9]。menin 与多种蛋白有着功能关联,包括转录调节,细胞分裂,DNA 修复。尽管有研究发现 menin 在胞质中和包膜上也有功能片段,但 menin 主要是作为一种核内蛋白发挥作用。

在 menin 蛋白的 N 末端,有 5 个结构相一致的序列,其生物学功能是 GTP 酶或者是与 GTP 结合的蛋白。这些结构与 menin 特定地结合于 GTP,但该结合作用的亲和力较低。尽管 menin 没有独立的 GTPase 活动,但是它与一种公认的肿瘤转移抑制物 nm23 结合而发挥 GTPase 通路的活性,menin 并不影响 nm23 的功能,但是它的活性发挥需要有 nm23^[10]。切除 MEN1 基因或基因结构不稳定将导致 menin 转录调节功能丢失或 GTP 水解,这可能是 MEN1 肿瘤形成的机制之一。

2 Menin 的分子生物学

2.1 Menin 与基因转录调控

分子生物学研究发现,menin 能够与 JunD、Pcm、NF- κ B、Smad-3 以及 ASK 等调节细胞增殖的关键转录因子相互作用,对细胞增殖起负调控作用^[11],这些转录因子是细胞对外界压力反应的主要调节因子,被认为是充当抑制物的中介化合物或者招募其他的抑制物,比如组蛋白乙酰化酶。组蛋白的乙酰化和去乙酰化在染色质的重建和基因表达的调节中起着重要的作用^[12,13,14]。Agarwal 等^[15]研究发现转录因子 JunD 可以直接与 menin 相互作用。在转录过程中 JunD 与 Gal4 的 DNA 结合域结合,menin 通过抑制由 JunD 介导的该过程而抑制转录。Kim 等^[14]发现 menin 通过一种组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase,HDAC)依赖性机制抑制 JunD 激活的转录过程,

menin 的中心区有一个与抑制物 mSin3 互相作用的区域 SID α -helix,menin 被证明通过 menin-SID 抑制 JunD 的转录活动,在这其中,mSin3A 招募 HDAC 至 menin。另有研究表明,menin 是转录因子蛋白家族 NF- κ B 介导的转录活化作用的抑制剂,menin 直接与 NF- κ B 家族的 3 个核心区域特异性结合,抑制 NF- κ B 介导的转录^[12]。此外,menin 能调节信号转导蛋白 Smad3 和转化生长因子- β (transforming growth factor- β ,TGF- β)诱导的转录过程,在癌症中已发现 TGF- β 信号通路被破坏,这提示 menin 在 TGF- β 信号通路中可能起抑制作用,从而抑制了细胞的生长^[16]。

在激素依赖性方式中^[17],menin 直接与雌激素受体 α 结合。雌激素反应性基因活化,编码 TFF1,从而促进 menin 的招募和组蛋白的改建,这些结构暗示 menin 与多种转录因子结合,通过改建组蛋白参与基因转录的调节。

2.2 Menin 在基因完整性维持中的作用

MEN1 病人的红细胞中常出现染色体异常,有猜测示 menin 在基因完整性的保持和 DNA 的修复中发挥着作用。研究发现,menin 与蛋白 A 的 32-kD 亚组结合,这与 DNA 的复制、修复、凋亡以及基因的表达等有关^[18]。menin 还与一种负责修复 DNA 的蛋白质 FANCD2 的功能相互关联^[19],主要涉及 Fanconi 贫血患者体内 DNA 的变异和修复,在老鼠胚胎纤维干细胞中,menin 表达的丢失可以提高 DNA 损伤的灵敏度。Busygina 等^[20]在果蝇中建立 MEN1 的无效等位基因,研究表明由 DNA 损伤引起的基因突变在该种变异的果蝇中具有更高的比例,这些研究均表明 menin 对于维持基因的完整性有着重要作用。

2.3 Menin 与细胞周期调控

Menin 在细胞周期调控过程中扮演着重要的角色。menin 通过诱导鸟苷三磷酸酶,激活核苷二磷酸激酶,来调控细胞周期^[2]。有研究发现,menin 一方面可以与细胞周期中 S 期的激酶激活剂如凋亡信号调节激酶 ASK 相互作用,促进细胞增殖;另一方面,menin 可以完全抑制 ASK,对细胞周期起负性调节作用^[21]。

3 Menin 与肿瘤

MEN1 基因促成肿瘤形成的机制主要是通过双

等位基因的功能丢失,二次打击造成微小突变如错义突变,或者更大的突变如杂合性的丢失。在人体和微生物中已发现有超过 400 种的 menin 突变^[22],其中无义突变和移码突变占 80%,是影响较明显的突变,因这两种突变将导致编码基因缩短或 menin 蛋白失活;错义突变导致单个氨基酸改变而引起 menin 失活,该机制尚未完全清晰,可能是这种氨基酸改变影响了 menin 抑制肿瘤活动的关键性功能^[23]。与野生型和良性多态性的 menin 蛋白水平相比,大多数 MEN1 引起的错义突变导致相关蛋白水平大幅下降,这些表达下降的突变蛋白可能是由泛素化蛋白酶体通路引起,这是阻止肿瘤抑制基因产物的常见机制之一,为化疗提供了临床思路,即在特定的患者身上使用靶向作用于泛素化蛋白酶体通路的药物,抑制肿瘤的发生发展^[24]。

3.1 Menin 与 MEN1 综合征

MEN1 综合征以家族性甲状旁腺、胰岛和垂体前叶肿瘤为特征。在这些肿瘤中,menin 表达水平降低。Theodoropoulou 等^[25]研究发现,正常人的垂体前叶内分泌细胞核内 menin 表达量高,而在垂体腺瘤中 menin 表达水平变化较大;且研究表明 TGF- β 能够抑制垂体瘤细胞增殖,但 menin 失活则拮抗 TGF- β 介导的细胞增殖抑制作用^[16],提示 menin 表达水平的改变可能是垂体肿瘤发生的原因之一。在甲状旁腺中,Carling^[26]提出钙敏感受体(calium-sensing receptor,CaSR)和维生素 D 受体(vitamin D receptor,VDR)的改变等原因引起的外周低血钙、高磷或低维生素 D 血症可能导致甲状旁腺病症,在此基础上 menin 蛋白失活,细胞周期素 D1(cyclin-D1)过度表达或其他肿瘤相关基因突变将导致甲状旁腺瘤的发生。Alvelos 等^[27]在 24 例甲状旁腺瘤组织标本中检测 2 个 MEN1 突变位点(c.249_252delGTCT 和 c.115_163del49bp),发现 54%(13/24 例)的组织中 MEN1 基因有内在缺失,13%(3/24 例)的肿瘤中 cyclin-D1 过度表达。有研究发现,在 40%胰腺的神经内分泌瘤(pancreatic neuroendocrine tumors,PNETs)中,存在 MEN-1 基因突变^[28]。此外,menin 表达异常与糖尿病发生也密切相关。Karnik 等^[29]研究发现 menin 可以抑制孕鼠胰岛 β 细胞增殖,同时伴随胰腺 menin 的减少。敲除 MEN1 基因可以改善链脲霉素诱导的小鼠糖尿病症状,同时也可以改善遗传性

db/db 糖尿病小鼠的高血糖症^[30]。

3.2 Menin 与造血系统肿瘤

最近研究表明,menin 是一种适应于上皮细胞起源的生长因子以及组蛋白甲基转移酶(histone methyltransferase,HMT)复合物的分子,并且与造血细胞生长和分化的调控有关^[31]。Miline 等^[32]发现 menin 能在 HMT 复合物内与混合白血病系(mixed lineage leukemia,MLL)家族的蛋白相互作用,直接调控基因位点 p27kip1、p18Ink4c 的转录活化,调节骨髓的造血功能,抑制 menin 与 MLL 融合蛋白的相互作用是逆转两者致癌活动的潜在策略^[33]。Chen 等^[34]发现 menin 与 MLL 相互作用调节 Hox 基因转录,对造血过程和维持白细胞数量和正常稳态是必需的,切除 MEN1 基因将导致 HoxA9 基因表达下降,造血祖细胞的集落形成减少,外周血白细胞计数降低。在 MLL-AF9 融合基因诱导的白血病发生过程中,menin 既可以与 MLL 野生型基因相互作用,也可以与 MLL-AF9 融合基因相互作用,通过对组蛋白 H3K4 三甲基化和 H3K79 二甲基化修饰,促进 Hox-A9 基因和周期蛋白 CyclinA 的表达,该过程在白血病的发生中起着关键作用^[35]。

3.3 Menin 与肺癌

研究发现,肺癌中 MEN1 作为一种抑癌基因,其在肺腺癌的表达明显低于癌旁组织,这主要与 MEN1 基因启动子 K-Ras 的甲基化增加有关^[36]。menin 低表达与肺癌细胞淋巴结转移呈正相关,提示 menin 可能对肺癌的转移起到重要的调控作用。Gao 等^[37]发现 menin 与表观抑制因子 polycomb(PcG)家族共同介导的 H3K27 组蛋白甲基化修饰,为多效生长因子(pleiotrophin,PTN)信号通路的维持和多种肺癌细胞增殖所必须。敲除 MEN1 可显著降低 PTN 启动子区域的 H3K27 三甲基化修饰,同时减少表观沉默蛋白 SUZ12 等 PcG 其他成员在该区域的富集; EZH2 基因表达沉默则促进 PTN 表达,提示 menin 与 PcG 家族共同介导的 H3K27 负性甲基化修饰可能与 PTN 等靶基因调控以及肺腺癌的发生密切相关。金光辉等^[38]围绕 menin 与肺癌的关系进行了大量探索,发现 menin 可以显著抑制肺癌细胞增殖和迁移,外源性 menin 过表达可显著抑制 A549 等肺癌细胞增殖,而 A242V、L22R 等肿瘤来源突变体则丧失或者部分丧失抑制细胞增殖功能。因此,深入研

究 *MEN1* 基因表达沉默的分子机制, 将为以 *MEN1* 通路为靶点的肺癌早期诊断和治疗提供新思路。

3.4 Menin 与肝癌

Menin 在肝癌中的研究较少,Zindy 等^[39] 在 15 例肝细胞癌(hepatocellular carcinomar,HCC)患者中分析肿瘤组织和无瘤区的正常肝组织基因的表达差异,发现表达下调的基因大多数与肝脏的功能有关;表达上调的基因则与细胞信号传递,新陈代谢,转录后调节有关,包括肿瘤抑制基因 *MEN1*,并且,在肿瘤中 *MEN1* 表达上调与肿瘤的大小有关。*menin* 是一种在 HCC 发生中与细胞纤维化有关的重要基因,其机制是通过 TGF- β 反应调制。

4 总 结

研究 *menin* 蛋白及与之相互作用的因子, 是为探索 *menin* 蛋白生物学功能并为临床相关诊断和治疗提供新的思路。尽管 *menin* 的功能机制尚未清晰,但可以肯定的是 *menin* 的功能比之前的预想要复杂。*menin* 在肿瘤发生中可能充当着不同的角色,如在内分泌器官中 *menin* 是一种肿瘤抑制物,在骨髓细胞中 *menin* 却起着诱导肿瘤发生的作用。为了更全面地了解 *menin* 的功能,还需要有更多的研究阐明它在基因稳定性调节中发挥的作用。*menin* 与其相互作用的因子在机体内的许多生物学机制尚未清晰,在今后的研究中,如何将这些研究成果运用于临床,在疾病治疗方面,尤其是肿瘤治疗,还需进一步的研究。

参考文献:

- [1] Chamberlain JS. Cachexia in cancer-zeroing in on myosin [J]. N Engl J Med, 2004, 351(20):2124-2125.
- [2] Lemos MC, Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): analysis of 1336 mutations reported in the first decade following identification of the gene [J]. Hum Mutat, 2008, 29(1):22-32.
- [3] Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manickam P, et al. Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1[J]. Science, 1997, 276(5311):404-407.
- [4] Agarwal SK, Lee Burns A, Sukhodolets KE, et al. Molecular pathology of the MEN1 gene [J]. Ann N Y Acad Sci, 2004, 1014:189-198.
- [5] Maruyama K, Tsukada T, Honda M, et al. Complementary DNA structure and genomic organization of *Drosophila* *menin*[J]. Mol Cell Endocrinol, 2000, 168(1-2):135-140.
- [6] van Kesteren RE, Syed NI, Munno DW, et al. Synapse formation between central neurons requires postsynaptic expression of the MEN1 tumor suppressor gene [J]. J Neurosci, 2001, 21(16):RC161.
- [7] Guru SC, Goldsmith PK, Burns AL, et al. Menin, the product of the MEN1 gene, is a nuclear protein[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(4):1630-1634.
- [8] Poisson A, Zablewska B, Gaudray P. Menin interacting proteins as clues toward the understanding of multiple endocrine neoplasia type 1[J]. Cancer Lett, 2003, 189(1):1-10.
- [9] La P, Schnepf RW, D Petersen C, et al. Tumor suppressor *menin* regulates expression of insulin-like growth factor binding protein 2[J]. Endocrinology, 2004, 145(7):3443-3450.
- [10] Yaguchi H, Ohkura N, Tsukada T, et al. Menin, the multiple endocrine neoplasia type 1 gene product, exhibits GTP-hydrolyzing activity in the presence of the tumor metastasis suppressor nm23[J]. J Biol Chem, 2002, 277(41):38197-38204.
- [11] Gao SB, Hua X, Jin GH. Menin regulates endocrine diseases by controlling histone modification and gene transcription[J]. Ann Endocrinol(Paris), 2008, 69(5):426-432.
- [12] Heppner C, Bilimoria KY, Agarwal SK, et al. The tumor suppressor protein *menin* interacts with NF-kappaB proteins and inhibits NF-kappaB-mediated transactivation [J]. Oncogene, 2001, 20(36):4917-4925.
- [13] Hughes CM, Rozenblatt-Rosen O, Milne TA, et al. Menin associates with a trithorax family histone methyltransferase complex and with the *hoxc8* locus[J]. Molecular Cell, 2004, 13(4):587-597.
- [14] Kim H, Lee JE, Cho EJ, et al. Menin, a tumor suppressor, represses JunD-mediated transcriptional activity by association with an mSin3A-histone deacetylase complex [J]. Cancer Res, 2003, 63(19):6135-6139.
- [15] Agarwal SK, Guru SC, Heppner C, et al. Menin interacts with the AP1 transcription factor JunD and represses JunD-activated transcription[J]. Cell, 1999, 96(1):143-152.
- [16] Kaji H, Canaff L, Lebrun JJ, et al. Inactivation of *menin*, a Smad3-interacting protein, blocks transforming growth factor type beta signaling[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(7):3837-3842.
- [17] Dreijerink KM, Mulder KW, Winkler GS, et al. Menin links estrogen receptor activation to histone H3K4 trimethylation[J]. Cancer Res, 2006, 66(9):4929-4935.

- [18] Sukhodolets KE, Hickman AB, Agarwal SK, et al. The 32-kilodalton subunit of replication protein A interacts with menin, the product of the MEN1 tumor suppressor gene[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(2): 493–509.
- [19] Jin S, Mao H, Schnepf RW, et al. Menin associates with FANCD2, a protein involved in repair of DNA damage[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(14): 4204–4210.
- [20] Busygina V, Suphachetiporn K, Marek LR, et al. Hypermutability in a Drosophila model for multiple endocrine neoplasia type 1[J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(20): 2399–2408.
- [21] Stalberg P, Grimfjard P, Santesson M, et al. Transfection of the multiple endocrine neoplasia type 1 gene to a human endocrine pancreatic tumor cell line inhibits cell growth and affects expression of JunD, delta-like protein 1/ preadipocyte factor-1, proliferating cell nuclear antigen, and QM/Jif-1[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(5): 2326–2337.
- [22] Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia[J]. *Horm Res*, 2001, 56(Suppl 1): 67–72.
- [23] Marx SJ, Simonds WF. Hereditary hormone excess: genes, molecular pathways, and syndromes[J]. *Endocr Rev*, 2005, 26(5): 615–661.
- [24] Yaguchi H, Ohkura N, Takahashi M, et al. Menin missense mutants associated with multiple endocrine neoplasia type 1 are rapidly degraded via the ubiquitin-proteasome pathway[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(15): 6569–6580.
- [25] Theodoropoulou M, Cavallari I, Barzon L, et al. Differential expression of menin in sporadic pituitary adenomas [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2004, 11(2): 333–344.
- [26] Carling T. Molecular pathology of parathyroid tumors[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2001, 12(2): 53–58.
- [27] Alvelos MI, Vinagre J, Fonseca E, et al. MEN1 intragenic deletions may represent the most prevalent somatic event in sporadic primary hyperparathyroidism[J]. *Eur J Endocrinol*, 2013, 168(2): 119–128.
- [28] Oberg K. The genetics of neuroendocrine tumors[J]. *Semin Oncol*, 2013, 40(1): 37–44.
- [29] Karnik SK, Chen H, McLean GW, et al. Menin controls growth of pancreatic beta-cells in pregnant mice and promotes gestational diabetes mellitus [J]. *Science*, 2007, 318(5851): 806–809.
- [30] Yang Y, Gurung B, Wu T, et al. Reversal of preexisting hyperglycemia in diabetic mice by acute deletion of the Men1 gene [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(47): 20358–20363.
- [31] Yokoyama A, Cleary ML. Menin critically links MLL proteins with LEDGF on cancer-associated target genes [J]. *Cancer Cell*, 2008, 14(1): 36–46.
- [32] Milne TA, Hughes CM, Lloyd R, et al. Menin and MLL cooperatively regulate expression of cyclin-dependent kinase inhibitors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(3): 749–754.
- [33] Shi A, Murai MJ, He S, et al. Structural insights into inhibition of the bivalent menin-MLL interaction by small molecules in leukemia [J]. *Blood*, 2012, 120(23): 4461–4469.
- [34] Chen YX, Yan J, Keeshan K, et al. The tumor suppressor menin regulates hematopoiesis and myeloid transformation by influencing Hox gene expression[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(4): 1018–1023.
- [35] Thiel AT, Blessington P, Zou T, et al. MLL-AF9-induced leukemogenesis requires coexpression of the wild-type Mll allele[J]. *Cancer Cell*, 2010, 17(2): 148–159.
- [36] Wu Y, Feng ZJ, Gao SB, et al. Interplay between menin and K-Ras in regulating lung adenocarcinoma [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(47): 40003–40011.
- [37] Gao SB, Feng ZJ, Xu B, et al. Suppression of lung adenocarcinoma through menin and polycomb gene-mediated repression of growth factor pleiotrophin[J]. *Oncogene*, 2009, 28(46): 4095–4104.
- [38] Jin GH, Zeng DQ, Xu B. Progress on Biological Function of MEN1 Gene [J]. *Journal of Xiamen University(Natural Science)*, 2011, 50(2): 437. [金光辉, 曾德泉, 徐斌. MEN1 基因生物学功能研究进展 [J]. 厦门大学学报 (自然科学版), 2011, 50(2): 437.]
- [39] Zindy PJ, L'Helgoualc'h A, Bonnier D, et al. Upregulation of the tumor suppressor gene menin in hepatocellular carcinomas and its significance in fibrogenesis[J]. *Hepatology*, 2006, 44(5): 1296–1307.