

DOI: 10.13376/j.cbls/2022131

文章编号: 1004-0374(2022)09-1181-09

# 冷诱导RNA结合蛋白在多种应激反应中的作用

曹宏伟<sup>1</sup>, 黄清宇<sup>2</sup>, 张 蕾<sup>1\*</sup>

(1 天津大学生命科学学院, 天津 300072; 2 内蒙古大学生命科学学院, 呼和浩特 010021)

**摘要:** 冷诱导 RNA 结合蛋白 (cold-inducible RNA-binding protein, CIRBP) 为最早在哺乳动物中发现的冷休克蛋白, 可伴随温和低温、缺氧、紫外线照射等条件而大量表达, 是一种参与多个生物学和疾病过程的应激反应蛋白。在应激条件下, CIRBP 可上调自身表达, 并从细胞核向细胞质转移, 通过稳定特定的 mRNA 促进其翻译, 使细胞对环境信号做出快速反应, 帮助细胞适应新的环境条件。该文针对应激条件下 CIRBP 的表达调控以及 CIRBP 参与促炎症、肿瘤发生、抗凋亡过程中的应激反应的新发现加以综述, 阐述 CIRBP 在细胞应激反应中的可能机制, 希望利用该蛋白的相关功能为有关疾病的诊治提供理论基础。

**关键词:** 冷诱导 RNA 结合蛋白; 应激反应; 促炎症; 抗凋亡; 肿瘤发生

**中图分类号:** Q71 **文献标志码:** A

## The role of cold-inducible RNA binding protein in a variety of stress reactions

CAO Hong-Wei<sup>1</sup>, HUANG Qing-Yu<sup>2</sup>, ZHANG Lei<sup>1\*</sup>

(1 School of Life Sciences, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2 School of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

**Abstract:** Cold-inducible RNA-binding protein (CIRBP) was the first cold shock protein found in mammals, which could be highly expressed with mild low temperature, hypoxia, ultraviolet radiation and other conditions. CIRBP was a stress-response protein involved in many biological and disease processes. Under stress conditions, CIRBP could up-regulate its expression and relocated into cytoplasm from nucleus, which enabled cells to respond quickly and adapt to changing environmental conditions by stabilizing specific mRNA and promoting its translation. This review summarized the recent discoveries in the regulation of CIRBP expression under pressure and its involvement in stress response during pro-inflammation, anti-apoptosis and tumorigenesis. In addition, the possible mechanism of CIRBP in cell stress response was discussed, which provided theoretical basis for the diagnosis and treatment of related diseases.

**Key words:** cold-inducible RNA-binding protein; stress response; pro-inflammation; anti-apoptosis; tumorigenesis

冷诱导 RNA 结合蛋白 (cold-inducible RNA-binding protein, CIRBP) 是 RNA 结合蛋白家族 (RNA binding proteins, RBPs) 的异源核糖核蛋白 (hnRNP) 亚群成员, 也称异源核糖核蛋白 A18 (hnRNP A18), 可通过调节靶标 mRNA 的稳定性来应对各种应激条件<sup>[1-3]</sup>。早在 1997 年, CIRBP 就在哺乳动物细胞中被发现, 起初被描述为紫外线胁迫诱发因子, 参与细胞遗传毒性应激反应, 随研究深入进一步被鉴定为轻度冷休克时诱导的蛋白质<sup>[4-5]</sup>。CIRBP 作为

一种普遍分布的应激反应蛋白, 通常在各种组织中呈低水平的组成型表达, 可伴随温和低温、缺氧应激、紫外线照射等条件而大量表达<sup>[6-8]</sup>。在多种应激条件下, CIRBP 除了在基因转录和蛋白质表达水

收稿日期: 2022-03-11; 修回日期: 2022-04-25

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0500300);

天津市自然科学基金重点项目(17JCZDJC33900)

\*通信作者: E-mail: zhanglei@tju.edu.cn

平上受到特异性调节外,还可观察到从细胞核到细胞质的亚细胞易位<sup>[9]</sup>,使细胞能够应对环境信号做出快速反应。在正常生理状态或应激条件下,CIRBP参与体内多种生物学和病理学过程,如细胞存活和凋亡<sup>[10]</sup>、生物节律调节<sup>[11]</sup>、端粒维持<sup>[12]</sup>、促炎以及肿瘤发生<sup>[1-2]</sup>等,被认作是一种多功能的蛋白。最近的研究聚焦在相分离<sup>[13]</sup>、急性肾损伤<sup>[14]</sup>、血管再生<sup>[15]</sup>等方向,具有重要的基础科学研究价值。因此,本文探讨了CIRBP的分子特性和表达调控,在此基础上对近年来CIRBP参与应激反应如促炎症、肿瘤发生、抗凋亡作用的相关研究和潜在调控机制进行综述,这将为进一步明晰相关疾病发病机理和分子诊疗等方面提供新的见解。

## 1 CIRBP的分子特性

CIRBP基因编码至少2种亚型蛋白,主要形式的短亚型(CIRBP-S)相对分子质量为18 kDa,包含172个氨基酸;长亚型(CIRBP-L)相对分子质量为32 kDa,包含297个氨基酸。CIRBP主要由N端RNA识别基序(RNA recognition motif, RRM)和C端富含甘氨酸的区域(glycine-rich domain, GRD)共同组成,其中,RRM是仅有的RNA结合区域,包含2个 $\alpha$ -螺旋和4个反向平行的 $\beta$ -折叠,具有进化保守性<sup>[16]</sup>。序列分析表明,CIRBP-S包含编码全长CIRBP的开放阅读框(open reading frame, ORF),而CIRBP-L保留了一个包含终止密码子的内含子区,经翻译形成更长的CIRBP异构体,其C端区域多个氨基酸被替换,起显性负性作用<sup>[17]</sup>。值得注意的是,CIRBP-S的翻译效率高于CIRBP-L,细胞在应激期间上调CIRBP-S的相对丰度可维持较高的CIRBP蛋白水平,高效响应环境信号。

CIRBP与基因表达的转录后调控有关,它可以通过RRM结构域与特定mRNA分子的5'端或3'端UTR区结合,介导RNA分子的选择性剪接、细胞核输出、翻译和降解等过程,从而快速响应环境信号<sup>[2]</sup>。在这个过程中,CIRBP对富含AU元件(AU-rich element, ARE)的序列具有高度亲和力,被称之为ARE结合蛋白。但含有ARE的mRNA通常不稳定,如VEGF、TNF- $\alpha$ 、IL-3、IL-6、IL-8等细胞因子都具有这个特征,它们与众多促进mRNA降解的RBPs结合,招募外切体形成复合物使其降解,沉默相应基因的表达<sup>[18-19]</sup>。然而,受到压力刺激时,CIRBP与富含ARE的mRNA竞争性结合,提高其稳定性以促进翻译,进而发挥更多的生物学

功能<sup>[20]</sup>。CIRBP羧基端的Arg-Gly-Gly重复序列能介导蛋白质间相互作用,影响与RNA的结合活性和胞内定位,并且CIRBP还可能作为分子伴侣发挥功能,协助胞内蛋白质折叠、组装、转运<sup>[21]</sup>。此外,CIRBP的蛋白质结构在脊椎动物中高度保守,并且CIRBP基因与TLR/NF- $\kappa$ B通路中的部分基因具有相似的表达模式,提示CIRBP在调控硬骨鱼炎症反应中可能也具有重要的生物学功能<sup>[22]</sup>。

CIRBP的亚细胞定位与压力特异性调节有关。在正常生理状态时,CIRBP主要位于细胞核,而遭受紫外线辐射等刺激时可观察到CIRBP从胞核重新分布到胞质中<sup>[23]</sup>。在探讨hnRNP A1蛋白转运机制的研究中,首次发现了既起核定位信号又承担核输出信号的核质穿梭信号M9序列<sup>[24]</sup>,之后又相继地在其他RNA结合蛋白中发现相同功能的核质穿梭信号,如hnRNP K(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K)、HuR(human antigen R)和SR蛋白(serine/arginine-rich protein),这些信号赋予蛋白伴随前体mRNA离开细胞核的能力<sup>[25]</sup>。此外,非洲爪蟾的xCIRP2蛋白的C端RG4结构域(富含Arg和Gly的区域)不仅起核质穿梭信号的作用<sup>[25]</sup>,而且还是蛋白质精氨酸甲基转移酶1(protein arginine methyltransferase 1, PRMT1)甲基化的作用位点,这预示着xCIRP2的核质转移可能与其甲基化存在关联。之后,Aoki等<sup>[25]</sup>研究表明,甲基供体抑制剂AdOx处理(可竞争性抑制甲基转移酶)会导致xCIRP2的胞质积累受到抑制,提示了精氨酸残基位点的甲基化为xCIRP2胞质积累所必需。

## 2 CIRBP的表达调控

CIRBP的过表达受低温、缺氧、紫外线辐射、渗透压改变等多个应激因素的调控。当哺乳动物细胞处于以上环境条件时,其胞内蛋白质合成进程普遍受到抑制,但少数冷休克蛋白的mRNA转录及蛋白表达水平反而增加<sup>[10,20,26]</sup>。Nishiyama等<sup>[10]</sup>研究表明,将小鼠成纤维细胞培养温度从37℃降低到32℃,CIRBP的表达增加。Wellmann等<sup>[26]</sup>发现,在轻度(8% O<sub>2</sub>)或严重(1% O<sub>2</sub>)缺氧条件下,两种冷休克蛋白RBM3和CIRBP的表达随之上调。Yang和Carrier<sup>[27]</sup>报道CIRBP响应紫外线刺激而高表达,并且从细胞核易位至细胞质。De Leeuw等<sup>[28]</sup>使用0.5 mmol/L亚砷酸盐处理NIH3T3细胞后,促进了CIRBP的核质转移,细胞质中的CIRBP比例显著增加。总的来说,目前对CIRBP过表达调控机制

的研究主要集中在低温方向。

大多数 mRNA (约 90%) 都依赖包含 m7G 帽结构的核糖体的扫描机制来启动蛋白质合成。而存在外界刺激因素时, 绝大部分 mRNA 的帽依赖性翻译被减弱, 导致翻译水平和效率降低。另外, 少数含有内部核糖体进入位点 (internal ribosome entry site, IRES)<sup>[29]</sup> 序列的 mRNA 仍可保证有效且高效的翻译。Al-Fageeh 和 Smales<sup>[30]</sup> 研究发现, CIRBP 的长转录本 (CIRBP-L) 在 32°C 温和低温条件下显示出离散的表达和稳定性, 并表现出 IRES 样活性, 显著上调了 CIRBP 的蛋白表达水平。与此同时, CIRBP 还可通过独立机制诱导自身的替代启动子, 由位于核心启动子上游附近的另一个启动子起始转录, 从而生成含有 IRES 序列的 CIRBP mRNA 变体, 可以在低温下更有效地翻译<sup>[31]</sup>。

另外, Sumitomo 等<sup>[32]</sup> 描述了一种新颖的温和冷反应元件 (mild-cold responsive element, MCRE), 该元件可增强温度转变至 32°C 时哺乳动物细胞中的基因表达。通过结合特异性蛋白 1 (specificity protein 1, Sp1), MCRE 有助于在 32°C 下诱导 CIRBP 表达。Gotic 等<sup>[33]</sup> 研究揭示了一种调控 CIRBP 表达的新型温度依赖性的转录后调节机制, 该机制显示 CIRBP mRNA 的温度依赖性积累主要受剪接效率的调节控制, 通过确定 CIRBP pre-mRNA 加工为成熟 mRNA 的比例以调节基因表达。CIRBP 还被认为与冬眠动物的耐寒特性相关<sup>[34]</sup>, 在冬眠动物中主要以功能性短异构体形式 (CIRBP-S) 存在<sup>[35]</sup>。总之, CIRBP 的多种转录调控机制协助细胞快速响应环境信号。

### 3 CIRBP与应激反应

CIRBP 参与细胞应激反应的调节。受应激原刺激后, CIRBP 从细胞核向细胞质迁移, 这其中有很大一部分 CIRBP 被募集到应激颗粒 (stress granules, SGs) 中<sup>[23]</sup>。SGs 的形成促使大量 mRNA 和蛋白质在胞质中聚集, 从而增强它们的相互作用, 在病毒感染、炎症反应以及疾病发生中起一定作用<sup>[36-37]</sup>。当环境压力解除后, SGs 会逐步降解以恢复正常的细胞生理活动, 期间被包裹的 mRNA 会被大量释放到胞质中<sup>[38]</sup>。CIRBP 在 SGs 形成和降解的过程中起重要作用, 可特异地结合如炎症介质 (TNF- $\alpha$  和 IL-8)、癌症相关因子 (HIF-1 $\alpha$  和 TRX) 以及细胞周期调节因子 (如 cyclin E1) 等多个应激反应的 mRNA, 从而调节其稳定性与翻译进程<sup>[39]</sup>。

CIRBP 还通过激活细胞外信号调节激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 途径介导抗凋亡过程<sup>[15]</sup> 和活化硫氧还蛋白 (thioredoxin, TRX) 参与抗氧化过程<sup>[40]</sup>, 保护细胞免受紫外线辐射和低氧诱导等引起的生物体损伤。当活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 在细胞质中过多积聚后, 会下调与内质网应激和蛋白质折叠相关基因的表达, 细胞内未折叠蛋白反应 (UPR) 的激活进一步破坏内质网的稳态<sup>[41-43]</sup>, 而 TRX 可以通过猝灭 ROS 来保护细胞免受紫外辐射和低温产生的损伤。在深低温停循环 (DHCA) 引起的肠道损伤对临床预后不利的研究中, CIRBP 也被证明可在此过程中维持肠上皮屏障, 起到保护作用<sup>[44]</sup>。

值得注意的是, CIRBP 存在抵御和加剧损伤的双重功能。一定范围内的应激反应可修复, 而过度的应激反应会对机体造成不可逆转的损伤, 引发一些炎症性疾病, 甚至促进肿瘤发生。

#### 3.1 促炎症效应

CIRBP 作为一种新型的损伤相关分子模式 (damage-associated molecular pattern, DAMP) 成员, 促进炎症细胞因子表达引起组织细胞损伤。Idrovo 等<sup>[6]</sup> 研究证明, 在失血性休克的实验模型中, 缺乏 CIRBP 会加速伤口愈合, 导致炎症消退。Qiang 等<sup>[45]</sup> 研究报道, 重组 CIRBP 蛋白在体外诱导巨噬细胞释放促炎细胞因子 TNF- $\alpha$  和 HMGB1 (high mobility group box 1), 刺激炎症反应并引起动物组织损伤。通过 CIRBP 中和血清抑制细胞外 CIRBP 活性, 可减轻休克引起的炎症、组织损伤和致死性。Rajayer 等<sup>[46]</sup> 研究显示, CIRBP 为酒精引起神经炎症的促炎介质, 敲除 CIRBP 使脑中促炎细胞因子 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  表达减少。

CIRBP 可作为细胞内介质参与炎症因子调节。Brochu 等<sup>[39]</sup> 发现响应紫外线刺激的 CIRBP 潜在下游靶标中有 3 种转录本明显上调, 包括促炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-8 和肿瘤坏死因子诱导蛋白 TNF $\alpha$ IP6, 提示了 CIRBP 介导转录后调控调节炎症反应和细胞生理过程。紧接着, Juan 等<sup>[20]</sup> 证实, 在冷应激条件下, CIRBP 增强了炎症细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-8 和 IL-6 mRNA 的稳定性, 加剧了呼吸道炎症反应。

在炎症的发病机制中, CIRBP 通过溶酶体分泌释放至宿主细胞外, 与多种免疫细胞 (如巨噬细胞和单核细胞) 膜表面的 Toll 样受体 4 (toll-like receptors 4, TLR4) 结合并发挥功能<sup>[47]</sup>。TLR4 为常见的参与 DAMP 触发炎症反应的模式识别受体, 通常作为辅

助受体与 MD2 (myeloid differentiation protein-2) 结合形成 TLR4/MD2 复合物。在肺部冷应激模型中, CIRBP 通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 途径介导炎症、黏液分泌增加和组织损伤<sup>[2]</sup>。其他的研究报道 CIRBP 参与激活 NF- $\kappa$ B 通路以调节培养的成纤维细胞中 IL-1 $\beta$  的表达<sup>[39]</sup>。NF- $\kappa$ B 与抑制蛋白 I $\kappa$ B 结合, 以无活性的聚合体形式存在于胞质中。活化的 NF- $\kappa$ B 为炎症级联反应的重要始动因素, I $\kappa$ B $\alpha$  被磷酸化、泛素化而降解失活, 使 NF- $\kappa$ B 二聚体释放出来并迁移到细胞核中, 与炎症相关基因结合启动转录, 产生多种炎症介质, 并刺激机体免疫应答增强。Brochu 等<sup>[39]</sup> 的研究显示, 敲低 CIRBP 表达使 LPS 诱导的 I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸化减少, 并且 NF- $\kappa$ B 的 DNA 结合活性降低, 特别是对于 p50/p65 异二聚体。CIRBP 还可通过 TLR4 直接诱导内质网应激, 未折叠蛋白质反应 IRE1 $\alpha$ -XBP1 途径将内质网应激信号与炎症反应整合在一起<sup>[47]</sup>。XBP1 为功能活跃的转录因子, 也是 UPR 的枢纽调节因子。一旦 XBP1 被磷酸化, IRE1 $\alpha$  的胞质结构域可以募集 TRAF2 来激活 JNK 和 IKK, 从而导致 AP1 和 NF- $\kappa$ B 的核易位, 级联扩大炎症反应并引起细胞凋亡, 最终导致急性肺损伤。

另外, Yang 等<sup>[48]</sup> 发现, CIRBP 可刺激小鼠肺血管内皮细胞中 NLRP3 (NOD-like receptor protein 3) 炎性小体的激活和组装进而诱导内皮细胞焦亡, 并引起肺损伤。同时作为一种新的促炎因子, 高度表达的 CIRBP 促进了猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV) 感染细胞的炎症因子的表达和氧化应激<sup>[49]</sup>, 提示 CIRBP 存在广泛的促炎症效应。CIRBP 在促炎症效应中的作用详见表 1。

### 3.2 肿瘤发生

CIRBP 与肿瘤发生密切相关, 被描述为一种癌基因, 在前列腺癌、结肠癌、乳腺癌、皮肤癌等多种癌症中过表达。相关证据表明 CIRBP 具有促进肿瘤发生的作用, 例如 CIRBP 使 ROS 积累和 CD133 表达增加以促进肝癌的发展<sup>[50-51]</sup>。

复制性衰老是指原代细胞经历有限次数的细胞分裂直至出现不可逆转地生长停滞的现象, 能够绕过复制性衰老的基因可促进癌细胞的永生, 通常被认为是候选癌基因。CIRBP 因具有绕过原代细胞中的复制性衰老的能力而被认为与肿瘤发生相关<sup>[52]</sup>。CIRBP 可以增强 ERK1/2 的磷酸化修饰水平, 刺激核糖体 S6 蛋白和真核翻译起始因子 4E 结合蛋白 (eIF4E-binding protein 1, 4E-BP1) 调节细胞周期蛋白活性, 从而改变细胞生长和增殖状态, 促进细胞 G<sub>1</sub>/S 期过渡。Jian 等<sup>[53]</sup> 发现 CIRBP 还通过 ERK1/2 信号途径诱导细胞周期蛋白 cyclin D1 和降低抑癌因子 p27 的表达以促进小鼠垂体瘤细胞的增殖。

上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 预示着肿瘤的侵袭转移能力。Lee 等<sup>[54]</sup> 报道 CIRBP 可通过激活 ERK 和 p38 途径促进 EMT 关键转录调节因子 Snail 表达, Snail 识别钙黏蛋白启动子中的 E-box 基序并与其特异性结合, 从而抑制钙黏蛋白的表达以诱导 EMT。

Lu 等<sup>[50]</sup> 的研究调查了 CIRBP 在人膀胱癌 (BCa) 中的作用, CIRBP 在 BCa 组织和细胞系中过表达以促进增殖和转移。在 BCa 细胞中, CIRBP 可通过结合缺氧诱导因子 -1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) mRNA 的 3'-UTR 区域从而增强 HIF-1 $\alpha$

表1 CIRBP在促炎症效应中的作用

模型	CIRBP表达	相关因子	作用	参考文献
失血性休克小鼠模型	降低	Gr-1表达低, CD31表达高, 表明进入血管生成和组织形成阶段	CIRBP缺乏加速伤口愈合, 导致炎症消退	[6]
体外诱导巨噬细胞	升高	释放TNF- $\alpha$ 和HMGB1	CIRBP刺激炎症反应并导致动物组织损伤	[45]
酒精诱导的神经炎症	升高	促炎细胞因子TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 表达上调	CIRBP诱导促炎反应, 从而导致神经炎症	[46]
紫外线应激	升高	依赖性诱导炎症反应因子IL-1 $\beta$ 、IL-8和TNF $\alpha$ IP6表达	CIRBP作为细胞内介质参与炎症因子调节	[39]
冷应激慢性炎症性呼吸道疾病	升高	增强TNF- $\alpha$ 、IL-8和IL-6 mRNA 3'-UTR的活性和稳定性	CIRBP作为细胞内介质调控靶标mRNA, 加剧呼吸道炎症反应	[20]
肺部冷应激模型; 急性肺损伤模型	升高	TLR4和磷酸化NF $\kappa$ B p65表达增加; 内质网应激信号与炎症反应级联	CIRBP通过TLR4/NF- $\kappa$ B途径介导炎症、黏液分泌增加和组织损伤	[2, 47]
小鼠血管内皮细胞损伤	升高	NLRP3炎性小体的激活和组装, 伴有caspase-1活化、IL-1 $\beta$ 释放和炎症细胞程序性死亡	休克时释放的CIRBP可通过NLRP3炎性小体诱导内皮细胞焦亡, 并引起肺损伤	[48]

表达的稳定性。HIF-1 $\alpha$ 可激活多种癌基因的转录,如 VEGF、C-MYC 和 OCT4 等。PTGIS 为 HIF-1 $\alpha$  的一个靶基因,编码前列腺素合酶,为一种肿瘤抑制因子,其过表达可抑制 BCa 细胞的增殖。HIF-1 $\alpha$  可通过与 PTGIS 启动子区域的缺氧反应元件 (hypoxia response element, HRE) 结合而提高其 DNA 的甲基化水平,进而抑制该基因的表达,表明 CIRBP 可能是人膀胱癌中诱导 HIF-1 $\alpha$  转录的新型致癌基因。

但在临床观察中, CIRBP 同时还具有抑癌基因的作用, CIRBP 基因过表达后, 肾癌细胞中转移相关蛋白 N-cadherin 表达明显降低, E-cadherin 水平增高, 并且 AKT 信号通路关键蛋白 AKT 和 GSK3 $\beta$  的磷酸化修饰水平下降。CIRBP 在肾癌组织中低表达, 过表达 CIRBP 可抑制肾癌细胞的增殖和转移<sup>[55]</sup>。同时, 下调 CIRBP 也可通过调节 MAP2K4-mRNA 的稳定性和翻译促进卵巢癌的发展<sup>[56]</sup>。CIRBP 在肿瘤发生中的作用总结见表 2。

### 3.3 抗凋亡作用

CIRBP 调节细胞凋亡与多种致病条件相关。CIRBP 可激活 MAPK/ERK1/2 级联途径和 NF- $\kappa$ B 途径, 促进 Bcl-2、Bcl-x1 介导的抗凋亡, 抑制 Bax、Bad 介导的 caspase-9 依赖性的细胞凋亡。Wu 等<sup>[57]</sup> 在低温治疗心脏骤停大鼠模型中的研究显示, 在冷刺激下, CIRBP 的表达增加, 且通过上调 Bcl-2 和下调 Bax、caspase-9 和 caspase-3 以抑制线粒体凋亡

途径, 发挥重要的神经保护作用。CIRBP 同样作为关键分子靶点, 可在低温治疗中保护视网膜神经, 抑制 ROS 产生并阻断 caspase 依赖性的细胞凋亡信号<sup>[58]</sup>。Zhang 等<sup>[59]</sup> 还发现, 在亚低温诱导的大鼠皮层神经元中, 高表达的 CIRBP 可激活 Akt 和 ERK 通路, 阻断线粒体凋亡信号, 进而保护神经元。Sakurai 等<sup>[60]</sup> 研究发现, CIRBP 在低温刺激下通过激活 ERK 途径抑制 caspase-8 的活化; CIRBP 还增强 NF- $\kappa$ B 的活性, 进而抑制 caspase-9 的激活, 保护细胞免受 TNF- $\alpha$  诱导的细胞凋亡。Lee 等<sup>[61]</sup> 的研究表明, CIRBP 参与 DNA 损伤反应过程。过表达 CIRBP 降低 p53 的水平, 进而下调促凋亡基因 (Puma、Noxa 和 Bax) 和上调抗凋亡基因 (Bcl-2、cIAP1 和 Bcl-w), 降低 DNA 损伤诱导的细胞凋亡。Liu 等<sup>[62]</sup> 还发现, CIRBP 通过激活 PI3K/Akt 途径来减少 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的细胞凋亡。此外, 由于阴囊高温、精索静脉曲张和热处理可降低 CIRBP 表达, CIRBP 与精子发生的关系也被阐明, 上调 CIRBP 在 GC2-spd 精母细胞中的表达可保持细胞活性、降低热应激造成的细胞凋亡, 表明 CIRBP 对热应激所导致的生精损伤具有一定程度的保护作用<sup>[63-64]</sup>。CIRBP 在抗凋亡作用中的研究详见表 3。

## 4 总结与展望

CIRBP 是一种进化上保守的应激反应蛋白, 在

表2 CIRBP在肿瘤发生中的作用

模型	CIRBP表达	相关因子	作用	参考文献
小鼠胚胎成纤维细胞永生生化	升高	ERK1/2磷酸化, 细胞周期蛋白cyclin D1-CDK4复合物的激酶活性增加	CIRBP通过激活ERK1/2信号通路促进小鼠胚胎成纤维细胞永生生化, 与癌细胞的无限增殖能力相关	[52]
体外诱导的上皮-间质转化(EMT)模型	升高	激活ERK和p38途径, 促进Snail表达, 抑制钙黏蛋白E表达	CIRBP激活ERK和p38途径促进EMT过程, 与癌转移和侵袭能力有关	[54]
小鼠垂体瘤	升高	细胞周期蛋白cyclin D1表达增高, 抑癌因子p27表达降低	CIRBP通过ERK1/2信号途径促进小鼠垂体瘤细胞的增殖	[53]
人膀胱癌	升高	HIF-1 $\alpha$ 高表达, 并通过与启动子区HRE序列结合进而抑制PTGIS表达	CIRBP可能是人类膀胱癌中一种新的致癌基因, 可诱导HIF-1 $\alpha$ 转录, 抑制甲基化PTGIS的表达	[50]
肝癌	升高	ROS积累, CD133表达增加	CIRBP使ROS积累和CD133表达增加以促进肝癌的发展	[50-51]
肾癌	降低	转移相关蛋白N-cadherin表达降低, E-cadherin水平增高, 抑制AKT通路关键蛋白p-AKT和p-GSK3 $\beta$ 的表达	CIRBP在肾癌组织中表达下调, CIRBP过表达可抑制肾癌细胞的增殖和转移	[55]
卵巢癌	降低	调节MAP2K4 mRNA的稳定性和翻译	下调的CIRBP通过调节MAP2K4-mRNA的稳定性和翻译促进卵巢癌的发展	[56]

表3 CIRBP发挥抗凋亡作用的研究

模型	CIRBP表达	相关因子	作用	参考文献
低温治疗心脏骤停大鼠模型	升高	上调Bcl-2, 下调Bax、caspase-9和caspase-3	低温治疗通过上调CIRBP表达和抑制线粒体凋亡途径发挥重要的神经保护作用	[57]
低温治疗保护视网膜	升高	抑制了细胞内活性氧的过度产生, 线粒体膜电位的去极化	CIRBP作为关键分子靶点, 在低温治疗中保护视网膜神经, 并免受光损伤	[58]
亚低温诱导的大鼠神经元	升高	激活Akt和ERK途径, 阻断线粒体凋亡信号	高表达的CIRBP抑制神经元凋亡, 从而保护神经元	[59]
低温刺激	升高	激活ERK途径, 抑制caspase-8的活化; 增强NF- $\kappa$ B的活性, 抑制caspase-9的激活	CIRBP在低温刺激下通过ERK和NF- $\kappa$ B途径保护细胞免受TNF- $\alpha$ 诱导的细胞凋亡	[60]
DNA损伤诱导的细胞凋亡	升高	p53表达降低, 下调促凋亡基因Puma、Noxa和Bax, 上调抗凋亡基因Bcl-2、cIAP1和Bcl-w	CIRBP参与DNA损伤反应过程	[61]
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 诱导的细胞凋亡	升高	激活PI3K/Akt途径	CIRBP可以对氧化应激发挥保护作用	[62]
热应激导致的生精损伤	降低	TGF- $\beta$ 2和TGF- $\beta$ 3的表达上调	CIRBP对热应激所导致的生精损伤具有保护作用	[63-64]

细胞中普遍表达并参与体内多种生物学和病理学过程。CIRBP存在抵御和加剧损伤的双重功能, 适度的应激反应可以保护机体免受损伤, 然而过度的应激反应无法逆转, 会引发一些炎症性疾病, 甚至促进肿瘤发生。

CIRBP响应许多应激原而被诱导高表达, 通过蛋白质水平变化和核质穿梭的组合参与各种应激反应。细胞内CIRBP作为RNA伴侣, 可特异性结合目标mRNA的5'或3'-UTR, 影响其转录后表达调控进而帮助细胞适应新的环境条件。它不仅响应亚低温条件下的抗细胞凋亡过程, 而且还参与保护细胞免受紫外线辐射、缺氧诱导的衰老过程等。此外, CIRBP可以被分泌到细胞外, 作为DAMP诱导促进炎症反应, 广泛参与多种急性和慢性炎症相关疾病。鉴于CIRBP普遍的表达和可诱导特性, 可以认为CIRBP是一种参与多种细胞信号通路的通用应激反应蛋白, 具有重要的科研价值。因此, 全面了解在压力应激条件下激活的CIRBP的功能, 有助于理解其在疾病微环境中如何运作。最近有研究团队通过联合临床测序数据分析, 指出CIRBP可能是类风湿性关节炎的新生物标志物<sup>[65]</sup>, 且与妇科癌症的生存预后和免疫浸润密切相关<sup>[66]</sup>, 这为未来的临床评价、决策诊疗提供了基础, 有助于进一步开发针对CIRBP的中和抗血清作为治疗药物, 以及采用CIRBP靶向肽干预治疗。紧随热点, Solano-Gonzalez等<sup>[67]</sup>开发了靶向CIRBP的化学探针, 将

蛋白质翻译抑制剂与免疫检查点抑制剂相结合, 展现出了有效缓解药物毒性和潜在耐药性的巨大潜力。另外, Pan等<sup>[68]</sup>报道在心脏保存溶液中添加CIRBP激动剂zr17-2可上调CIRBP表达, 从而进一步增强辅酶Q<sub>10</sub>的合成, 促进ATP产生并提高对活性氧的清除能力, 是改善心脏损伤和延长心脏运输过程中保存时间的潜在策略。

总之, CIRBP作为一种多功能的蛋白质, 具有广阔的应用前景, 很多疾病的进展可能会因其研究受益。更好地了解RNA-RBPs相互作用在疾病中未被充分探索的生物学功能, 有希望为新疗法的设计提供基础, 将面向CIRBP的基础科学研究转化为临床应用。

#### [参 考 文 献]

- [1] Zhong P, Peng J, Yuan M, et al. Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) in inflammatory diseases: molecular insights of its associated signalling pathways. *Scand J Immunol*, 2021, 93: e12949
- [2] Lujan DA, Ochoa JL, Hartley RS. Cold-inducible RNA binding protein in cancer and inflammation. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2018, 9: 10.1002/wrna.1462
- [3] 刘和宇, 夏伟. 冷诱导RNA结合蛋白的生物学功能与信号通路. *中国生物化学与分子生物学报*, 2018, 34: 697-705
- [4] Fornace AJ Jr, Alamo I Jr, Hollander MC. DNA damage-inducible transcripts in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85: 8800-4
- [5] Sheikh MS, Carrier F, Papatnasiou MA, et al.

- Identification of several human homologs of hamster DNA damage-inducible transcripts. Cloning and characterization of a novel UV-inducible cDNA that codes for a putative RNA-binding protein. *J Biol Chem*, 1997, 272: 26720-6
- [6] Idrovo JP, Jacob A, Yang WL, et al. A deficiency in cold-inducible RNA-binding protein accelerates the inflammation phase and improves wound healing. *Int J Mol Med*, 2016, 37: 423-8
- [7] Long TY, Jing R, Kuang F, et al. CIRBP protects H9C2 cells against myocardial ischemia through inhibition of NF- $\kappa$ B pathway. *Braz J Med Biol Res*, 2017, 50: e5861
- [8] Liu Y, Xing J, Li Y, et al. Chronic hypoxia-induced Cirbp hypermethylation attenuates hypothermic cardioprotection via down-regulation of ubiquinone biosynthesis. *Sci Transl Med*, 2019, 11: eaat8406
- [9] Zhong P, Huang H. Recent progress in the research of cold-inducible RNA-binding protein. *Future Sci OA*, 2017, 3: FSO246
- [10] Nishiyama H, Itoh K, Kaneko Y, et al. A glycine-rich RNA-binding protein mediating cold-inducible suppression of mammalian cell growth. *J Cell Biol*, 1997, 137: 899-908
- [11] Hoekstra MM, Emmenegger Y, Hubbard J, et al. Cold-inducible RNA-binding protein (CIRBP) adjusts clock-gene expression and REM-sleep recovery following sleep deprivation. *Elife*, 2019, 8: e43400
- [12] Wei C, Cheng J, Zhou B, et al. Tripartite motif containing 28 (TRIM28) promotes breast cancer metastasis by stabilizing TWIST1 protein. *Sci Rep*, 2016, 6: 29822
- [13] Zhou Q, Usluer S, Zhang F, et al. ATP regulates RNA-driven cold inducible RNA binding protein phase separation. *Protein Sci*, 2021, 30: 1438-53
- [14] Sui M, Xu D, Zhao W, et al. CIRBP promotes ferroptosis by interacting with ELAVL1 and activating ferritinophagy during renal ischaemia-reperfusion injury. *J Cell Mol Med*, 2021, 25: 6203-16
- [15] Kübler M, Beck S, Fischer S, et al. Absence of cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) promotes angiogenesis and regeneration of ischemic tissue by inducing M2-like macrophage polarization. *Biomedicines*, 2021, 9: 395
- [16] Coburn K, Melville Z, Aligholizadeh E, et al. Crystal structure of the human heterogeneous ribonucleoprotein A18 RNA-recognition motif. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*, 2017, 73: 209-14
- [17] Shiina T, Shimizu Y. Temperature-dependent alternative splicing of precursor mRNAs and its biological significance: a review focused on post-transcriptional regulation of a cold shock protein gene in hibernating mammals. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 7599
- [18] Stoecklin G, Mayo T, Anderson P. ARE-mRNA degradation requires the 5'-3' decay pathway. *EMBO Rep*, 2006, 7: 72-7
- [19] Chen CY, Gherzi R, Ong SE, et al. AU binding proteins recruit the exosome to degrade ARE-containing mRNAs. *Cell*, 2001, 107: 451-64
- [20] Juan Y, Wu H, Xie W, et al. Cold-inducible RNA-binding protein mediates airway inflammation and mucus hypersecretion through a post-transcriptional regulatory mechanism under cold stress. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 78: 335-48
- [21] Liao Y, Tong L, Tang L, et al. The role of cold-inducible RNA binding protein in cell stress response. *Int J Cancer*, 2017, 141: 2164-73
- [22] Diao J, Yu X, Wang X, et al. Full-length transcriptome sequencing combined with RNA-seq analysis revealed the immune response of fat greenling (*Hexagrammos otakii*) to *Vibrio harveyi* in early infection. *Microb Pathog*, 2020, 149: 104527
- [23] 唐佳佳, 汤承, 聂培婷, 等. 冷诱导RNA结合蛋白在应激状态下对细胞的保护作用机制. *生理科学进展*, 2013, 44: 67-71
- [24] Siomi H, Dreyfuss G. A nuclear localization domain in the hnRNP A1 protein. *J Cell Biol*, 1995, 129: 551-60
- [25] Aoki K, Ishii Y, Matsumoto K, et al. Methylation of *Xenopus* CIRP2 regulates its arginine- and glycine-rich region-mediated nucleocytoplasmic distribution. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30: 5182-92
- [26] Wellmann S, Bühner C, Moderegger E, et al. Oxygen-regulated expression of the RNA-binding proteins RBM3 and CIRP by a HIF-1-independent mechanism. *J Cell Sci*, 2004, 117: 1785-94
- [27] Yang C, Carrier F. The UV-inducible RNA-binding protein A18 (A18 hnRNP) plays a protective role in the genotoxic stress response. *J Biol Chem*, 2001, 276: 47277-84
- [28] De Leeuw F, Zhang T, Wauquier C, et al. The cold-inducible RNA-binding protein migrates from the nucleus to cytoplasmic stress granules by a methylation-dependent mechanism and acts as a translational repressor. *Exp Cell Res*, 2007, 313: 4130-44
- [29] Graber TE, Lewis SM, Holcik M. An approach to whole-genome identification of IRES elements. *Curr Genomics*, 2006, 7: 205-15
- [30] Al-Fageeh MB, Smales CM. Cold-inducible RNA binding protein (CIRP) expression is modulated by alternative mRNAs. *RNA*, 2009, 15: 1164-76
- [31] Al-Fageeh MB, Smales CM. Alternative promoters regulate cold inducible RNA-binding (CIRP) gene expression and enhance transgene expression in mammalian cells. *Mol Biotechnol*, 2013, 54: 238-49
- [32] Sumitomo Y, Higashitsuji H, Higashitsuji H, et al. Identification of a novel enhancer that binds Sp1 and contributes to induction of cold-inducible RNA-binding protein (cirp) expression in mammalian cells. *BMC Biotechnol*, 2012, 12: 72
- [33] Gotic I, Omidi S, Fleury-Olela F, et al. Temperature regulates splicing efficiency of the cold-inducible RNA-binding protein gene Cirbp. *Genes Dev*, 2016, 30: 2005-17
- [34] Liu L, Zhang R, Wang X, et al. Transcriptome analysis reveals molecular mechanisms responsive to acute cold stress in the tropical stenothermal fish tiger barb (*Puntius tetrazona*). *BMC Genomics*, 2020, 21: 737

- [35] Horii Y, Shimaoka H, Horii K, et al. Mild hypothermia causes a shift in the alternative splicing of cold-inducible RNA-binding protein transcripts in *Syrian hamsters*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2019, 317: R240-7
- [36] Kedersha N, Anderson P. Stress granules: sites of mRNA triage that regulate mRNA stability and translatability. *Biochem Soc Trans*, 2002, 30: 963-9
- [37] 陈新颖, 华子春, 殷武. 应激颗粒的形成与生物学意义. *中国细胞生物学学报*, 2012, 34: 837-44
- [38] Loschi M, Leishman CC, Berardone N, et al. Dynein and kinesin regulate stress-granule and P-body dynamics. *J Cell Sci*, 2009, 122: 3973-82
- [39] Brochu C, Cabrita MA, Melanson BD, et al. NF- $\kappa$ B-dependent role for cold-inducible RNA binding protein in regulating interleukin  $\beta$ . *PLoS One*, 2013, 8: e57426
- [40] Yang R, Weber DJ, Carrier F. Post-transcriptional regulation of thioredoxin by the stress inducible heterogenous ribonucleoprotein A18. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: 1224-36
- [41] Zeeshan HM, Lee GH, Kim HR, et al. Endoplasmic reticulum stress and associated ROS. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 327
- [42] Ma WW, Zhao L, Yuan LH, et al. Elaidic acid induces cell apoptosis through induction of ROS accumulation and endoplasmic reticulum stress in SH-SY5Y cells. *Mol Med Rep*, 2017, 16: 9337-46
- [43] Ozgur R, Uzilday B, Sekmen AH, et al. The effects of induced production of reactive oxygen species in organelles on endoplasmic reticulum stress and on the unfolded protein response in *Arabidopsis*. *Ann Bot*, 2015, 116: 541-53
- [44] Li Y, Liu M, Gao S, et al. Cold-inducible RNA-binding protein maintains intestinal barrier during deep hypothermic circulatory arrest. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2019, 29: 583-91
- [45] Qiang X, Yang WL, Wu R, et al. Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) triggers inflammatory responses in hemorrhagic shock and sepsis. *Nat Med*, 2013, 19: 1489-95
- [46] Rajayer SR, Jacob A, Yang WL, et al. Cold-inducible RNA-binding protein is an important mediator of alcohol-induced brain inflammation. *PLoS One*, 2013, 8: e79430
- [47] Khan MM, Yang WL, Brenner M, et al. Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) causes sepsis-associated acute lung injury via induction of endoplasmic reticulum stress. *Sci Rep*, 2017, 7: 41363
- [48] Yang WL, Sharma A, Wang Z, et al. Cold-inducible RNA-binding protein causes endothelial dysfunction via activation of Nlrp3 inflammasome. *Sci Rep*, 2016, 6: 26571
- [49] Xiao X, Zhang W, Hua D, et al. Cold-inducible RNA-binding protein (CIRBP) promotes porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-induced inflammatory response. *Int Immunopharmacol*, 2020, 86: 106728
- [50] Lu M, Ge Q, Wang G, et al. CIRBP is a novel oncogene in human bladder cancer inducing expression of HIF-1 $\alpha$ . *Cell Death Dis*, 2018, 9: 1046
- [51] Sakurai T, Yada N, Watanabe T, et al. Cold-inducible RNA-binding protein promotes the development of liver cancer. *Cancer Sci*, 2015, 106: 352-8
- [52] Artero-Castro A, Callejas FB, Castellvi J, et al. Cold-inducible RNA-binding protein bypasses replicative senescence in primary cells through extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 activation. *Mol Cell Biol*, 2009, 29: 1855-68
- [53] Jian F, Chen Y, Ning G, et al. Cold inducible RNA binding protein upregulation in pituitary corticotroph adenoma induces corticotroph cell proliferation via Erk signaling pathway. *Oncotarget*, 2016, 7: 9175-87
- [54] Lee HN, Ahn SM, Jang HH. Cold-inducible RNA-binding protein promotes epithelial-mesenchymal transition by activating ERK and p38 pathways. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 477: 1038-44
- [55] 杨柳, 熊吟, 余永红, 等. 上调CIRBP基因表达抑制肾癌细胞的增殖和迁移及其可能的分子机制. *肿瘤*, 2020, 4: 257-65
- [56] Zou D, Wang D, Zhou Q, et al. Downregulation of RNA binding protein CIRBP (cold-inducible RNA-binding protein) promotes ovarian cancer progression by regulating MAP2K4 mRNA stability and translation. *Gynecol Oncol*, 2019, 154: 66
- [57] Wu L, Sun HL, Gao Y, et al. Therapeutic hypothermia enhances cold-inducible RNA-binding protein expression and inhibits mitochondrial apoptosis in a rat model of cardiac arrest. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 2697-705
- [58] Sun YJ, Ma S, Fan B, et al. Therapeutic hypothermia protects photoreceptors through activating Cirbp pathway. *Neurochem Int*, 2019, 126: 86-95
- [59] Zhang HT, Xue JH, Zhang ZW, et al. Cold-inducible RNA-binding protein inhibits neuron apoptosis through the suppression of mitochondrial apoptosis. *Brain Res*, 2015, 1622: 474-83
- [60] Sakurai T, Itoh K, Higashitsuji H, et al. Cirp protects against tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced apoptosis via activation of extracellular signal-regulated kinase. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1763: 290-5
- [61] Lee HN, Ahn SM, Jang HH. Cold-inducible RNA-binding protein, CIRP, inhibits DNA damage-induced apoptosis by regulating p53. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464: 916-21
- [62] Liu J, Xue J, Zhang H, et al. Cloning, expression, and purification of cold inducible RNA-binding protein and its neuroprotective mechanism of action. *Brain Res*, 2015, 1597: 189-95
- [63] Cheng G, Ke D, Rao M, et al. Effects of cold-inducible RNA-binding protein on the proliferation and apoptosis of spermatogenic cells *in vitro* following heat stress. *Reprod Fertil Dev*, 2019, 31: 953-61
- [64] Rao M, Ke D, Cheng G, et al. The regulation of CIRBP by transforming growth factor  $\beta$  during heat shock-induced testicular injury. *Andrology*, 2019, 7: 244-50
- [65] Rychkov D, Neely J, Oskotsky T, et al. Cross-tissue transcriptomic analysis leveraging machine learning approaches identifies new biomarkers for rheumatoid



- arthritis. *Front Immunol*, 2021, 12: 638066
- [66] Shang C, Li Y, Wu Z, et al. The prognostic value of DNA methylation, post-translational modifications and correlated with immune infiltrates in gynecologic cancers. *Pharmgenomics Pers Med*, 2021, 14: 39-53
- [67] Solano-Gonzalez E, Coburn KM, Yu W, et al. Small molecules inhibitors of the heterogeneous ribonuclear protein A18 (hnRNP A18): a regulator of protein translation and an immune checkpoint. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49: 1235-46
- [68] Pan HZ, Zhang LJ, Liu YW, et al. Cold-inducible RNA binding protein agonist enhances the cardioprotective effect of UW solution during extended heart preservation. *Artif Organs*, 2020, 44: E406-18