

# 小分子量 G 蛋白 Rap2 信号途径的生物学功能

沈春雯 高忠江 施树良\*

(哈尔滨工业大学生命科学与工程系, 哈尔滨 150001)

**摘要** Rap2 与 Rap1 同属于 Ras 超家族小分子量 GTP 结合蛋白的 Rap 亚家族, Rap2 的氨基酸序列与 Rap1 具有 60% 的同源性, 推测二者可能具有相似的信号途径和相近的生物学功能, 包括细胞的增殖、分化、粘附和细胞骨架重排。然而, Rap2 位于效应因子结构域的第 39 位的苯丙氨酸不同于 Rap1 及 Ras 的丝氨酸, 这个关键差异表明其可能通过特异的下游信号分子调控独特的生物学功能。最近, 随着 Rap2 特异效应因子的不断发现, Rap2 特异的信号通路及功能受到了更多的关注, Rap2 具有多样的生物学功能, 除调控细胞粘附及细胞骨架动态组装外, Rap2 调节中枢神经突触的可塑性以及非洲爪蟾发育中背腹轴特化。此外, 也有报道显示 Rap2 的表达增强与多种肿瘤的形成具有相关性。本文主要针对 Rap2 的信号途径和生物学功能研究的最新进展进行介绍。

**关键词** Rap2; 效应因子; 信号途径; 生物学功能; 肿瘤

Rap2 所属的 Ras 超家族主要有 Ras、Rho、Rab、Arf 以及 Ran 家族<sup>[1,2]</sup>。哺乳类 Ras 家族包括 Ras (Ha-Ras, Ki-Ras, N-Ras)、Rap (Rap1A, Rap1B, Rap2A, Rap2B, Rap2C)、Ral (Ral1, Ral2)、R-Ras (R-Ras, R-Ras2/TC21, R-Ras3/M-Ras)、Rhe、Rin 和 Rit<sup>[3,4]</sup>。Rap2 属于 Ras 家族中的 Rap 亚家族。Ras 超家族在信号转导过程中行使分子开关的功能, 作用于多种受体蛋白下游, 介导细胞外信号引起的细胞质或/和细胞核生物学特性的改变, 产生细胞应答, 调控多种细胞生命活动<sup>[1]</sup>。最近 Rap1 的研究取得较快进展, Rap1 调控细胞粘附、细胞分化和细胞运动的信号通路已得到了较深入的研究, 显示 Rap 信号蛋白通路是细胞生命活动的重要调节开关<sup>[5]</sup>。而 Rap2 与 Rap1 在氨基酸序列上有 60% 同源性, 因此推测 Rap2 与 Rap1 具有相似的信号通路和生物学功能。Rap1 与 Ras 拥有完全相同的效应因子结构域, Kitayama 等<sup>[6]</sup>提出 Rap1 可能与 Ras 竞争下游效应因子, 因而导致 Rap1 具有拮抗 Ras 的功能, 而 Rap2 在其效应因子结构域除第 39 位氨基酸残基苯丙氨酸外, 与 Rap1 及 Ras 完全相同, 因此推测 Rap2 也能拮抗 Ras 的功能, 然而尚未有实验数据显示 Rap2 能够拮抗 Ras 的功能。相反, Rap2 与 Ras 及 Rap1 在效应因子结构域的微小可能差异使得 Rap2 拥有特异的效应因子并通过特异的信号途径调控特定的生物学功能<sup>[7]</sup>。

## 1 Rap2的发现及生物学特性

### 1.1 Rap2 的发现

1988年, Pizon等<sup>[8]</sup>通过利用果蝇 Dras3 基因制成的探针针对Burkitt's淋巴瘤cDNA文库进行筛选获得了 Rap1A 以及 Rap2A。1990年, Ohmstede等<sup>[9]</sup>和 Farrell等<sup>[10]</sup>利用抗 Ras 抗体从人体血小板中筛选出了 Rap2B, 2006年, Paganini等<sup>[4]</sup>通过对 GenBank 数据库的搜索, 发现了新的 Rap 同源基因并命名为 Rap2C。Rap2A、Rap2B、Rap2C 分别定位于 13q34、3q25 及 Xq25-26 染色体区域。Rap 蛋白广泛表达, 但其亚型的表达具有组织特异性, 例如: 在人类血小板中 Rap1B 高表达, 而 Rap1A 表达很低, 而在中性粒细胞表达的 Rap2 以 Rap2B 为主<sup>[11]</sup>。Béranger 等<sup>[12]</sup>较早对 Rap2 的细胞内定位进行了分析, 免疫荧光实验结果显示了 Rap2 的细胞膜定位, 而蔗糖密度梯度实验结果表明 Rap2 与内质网也存在共定位。Ohba 等<sup>[13]</sup>采用免疫荧光和电子显微镜观察胶体金实验进一步确认了 Rap2 的细胞膜定位的同时, 也发现 Rap2 与内质网和高尔基标志物均有共定位。上述分析结果支持 Rap2 在细胞内分布的异质性, 即主要分布于细胞膜和内膜系统, Rap2 的细胞内定位特征提示 Rap2 可能具有多样化的细胞生物学功能。

### 1.2 Rap2 的基本结构特征

人 Rap2A、Rap2B 及 Rap2C 分别编码 183 个氨基酸残基, 三者间氨基酸序列相同性超过 90%, 其结

收稿日期: 2009-06-05 接受日期: 2009-12-28

哈尔滨工业大学海内外引进人才科研启动项目

\* 通讯作者。Tel: 0451-86412863, E-mail: liangss@hit.edu.cn

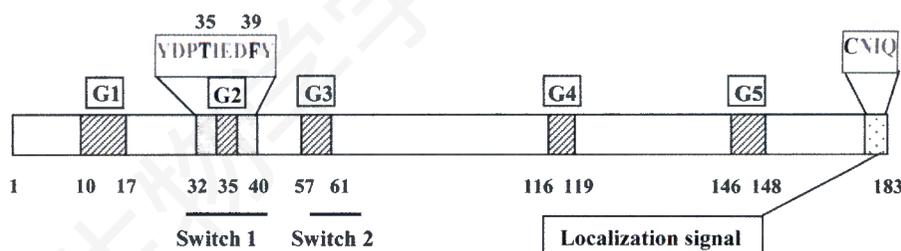


Fig.1 Rap2 domain structures

构域组成与 Ras 家族蛋白相似<sup>[4]</sup>(图 1), 主要包括:

(1)效应因子结构域(effector domain) (第 32~40 位氨基酸残基): Rap2 在活化状态下通过该结构域与下游效应因子结合, 介导其细胞生物学机能<sup>[14]</sup>, Rap2 的第 39 位氨基酸为苯丙氨酸, 不同于 Ras 和 Rap1, 推测该差异赋予 Rap2 特异性的效应因子结合能力。

(2)核苷酸结合结构域(nucleotide binding domain): 同 Ras 蛋白一样, Rap2 含有由 5 个散在分布的 G box 组成(G1~G5), 分布于第 11 位到 148 位氨基酸残基, 介导 Rap 蛋白与鸟苷酸结合;

(3) C 端 CAAX 基序: 该基序是 Ras 家族蛋白共有的翻译后修饰指示基序, Rap2 的 C 末端序列为 CNIQ, 接受多聚异戊烯脂修饰、AAX 末端切除和进一步的末端  $\alpha$  羧基甲基化, CAAX 修饰赋予了原本亲水性的蛋白质结构域以疏水性质并使其能与细胞膜脂双层结合<sup>[15]</sup>。

### 1.3 Rap2 活性的调节

作为信号通路中的分子开关, Rap2 在细胞内以两种状态存在, 即: 无活性的 GDP 结合(GDP-Rap2)和有活性的 GTP 结合状态(GTP-Rap2), 在 Rap2 上游调控因子的作用下 Rap2 可在活化和失活状态之间互相转换<sup>[1,2,16]</sup>。Rap2 鸟苷酸交换因子(Rap2 guanine nucleotide exchange factors, Rap2GEFs)可促进 Rap2 释放与其结合的 GDP 分子的同时结合 GTP 分子, 从而使 Rap2 从非活性状态转变为活性状态。而 Rap2 鸟苷三磷酸酶激活蛋白(Rap2 GTPase-activating protein, Rap2GAPs)能通过促进 Rap2 内在的 GTP 水解活性, 而使 GTP-Rap2 转换为 GDP-Rap2, 从而促进 Rap2 的失活<sup>[17]</sup>。GTP-Rap2 与 GDP-Rap2 结构上的差异在于它们的 Switch I 及 Switch II 结构域的构象不同, GTP 结合状态下的 Switch I 及 Switch II 结构域的构象与下游效应因子具有更高的亲和能力<sup>[2,18]</sup>。尽管 Rap1 与 Rap2 在氨基酸序列上高度同源, 薄纸层

析的实验结果显示在体外培养的细胞中 Rap2 的活化水平超过 50%, 显著高于 Rap1, 这可能与 Rap2 的 GTP 水解活性的低下或对 Rap2GAPs 敏感性较低所致<sup>[13]</sup>。

### 1.4 Rap2 活性的调控因子

Rap2 具有与 Rap1 相似的活化和失活调控因子, 已发现的 Rap2GEFs 和 GTP 酶激活蛋白(GAPs)多数对 Rap1 有相似的功能, 目前已知的 RapGEFs 有四种类型<sup>[18]</sup>:

(1) CD-GEF1 和 3 (CalDAG-GEF/III): 能与钙离子和二酰基甘油(DAG)直接结合而发生构象改变, 从而催化 Rap1 和 Rap2 的活化。

(2) Epac1 和 2 (exchange protein directly activated by cAMP1, 2): 含有 cAMP 结合位点, 是被细胞内除 PKA 之外的 cAMP 直接调节蛋白, 对 Rap1 和 Rap2 均有活性催化作用。

(3) C3G (Crk SH3 domain-binding guanine-nucleotide releasing factor): 是首个发现的 RapGEF, 通过富含脯氨酸的结构域与 Crk 蛋白的 SH3 结构域结合, 并被募集到酪氨酸磷酸化的受体酪氨酸激酶细胞内结构域处。C3G 通过 GEF 结构域催化位于膜结构的 Rap1 及 Rap2 的活化<sup>[13,17]</sup>。

(4) PDZ-GEF1 和 2 (RA-GEF-1,2/nRapGEP/CNrasGEF): 含有 PDZ (PSD-95/DlgA/ZO-1)结构域、RA (Ras-association)结构域、REM (Ras exchange motif)及 GEF 结构域。尽管二者均能促进 Rap1 及 Rap2 的活化, 其中 PDZ-GEF2 对 Rap2 的激活能力强于其对 Rap1 的激活能力, 而 PDZ-GEF-1 则为激活 Rap2 的能力最高的 GEF<sup>[19]</sup>。

已知的 Rap GAPs 有: Rap1GAP, tuberin, SPAR/E6TP1/SIPAL1 (Spine-associated RapGAP) 1 和 2 以及 SPA-1 (signal-induced proliferation-associated gene-1)。除 SPAR 外均对 Rap1 及 Rap2 的失活有促进作用<sup>[3,20]</sup>。

## 2 Rap2 的下游效应因子

### 2.1 Rap2 的通用下游效应因子

由于 Rap2 具有与 Ras 蛋白相似的效应因子结构域, 因此可与多个 Ras 下游效应因子相互作用, 如: Raf-1、RalGDS、PI3K 以及 RAPL/Nore1B 等<sup>[14,21]</sup>。这些效应因子的共同特征是含有 RA 结构域, 与活性化的 Ras、Rap1 及 Rap2 结合, 在信号转导中细胞如何在上述 G 蛋白间整合和分配这些效应因子以完成对各种信号的应答尚不清楚。已知在体外培养的细胞中, Rap2 与 Rap1 同样能抑制 Raf-1 依赖性的转录因子 EIK-1 的激活<sup>[13]</sup>。在 B 细胞白血病细胞系 A20 中, Rap2 能与 PI3K 结合, 抑制 Akt 的活性, Akt 为 PI3K 的直接下游靶因子<sup>[22]</sup>, 因此竞争性抑制被认为是解释 Rap 与 Ras 关系的重要机制, 然而也有实验证实 Rap 与 Ras 在细胞内定位不同, 且 Rap 不仅能抑制 Ras 介导的 Raf-1 的活化, 在 PC12 细胞中 Rap1 还能促进 B-Raf 的活化, 从而与 Ras 共同调节 PC12 细胞的神经分化<sup>[23]</sup>。

### 2.2 Rap2 的特异性下游效应因子

Rap2 除了拥有与 Ras 及 Rap1 共有的下游效应因子以外, Rap2 能与特异的效应因子结合, 激活独特的信号途径。目前已发现的特异效应因子包括: TNIK (Traf2- and Nck-interacting kinase)、MAP4K4 (mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4)、MINK (Misshapen/NIKs-related kinase)、PARG1 (PTPL1-associated RhoGAP 1) 以及 RPIP8 (Rap2-interacting protein 8) /RPIP9<sup>[7,14,19,20]</sup>。其中, TNIK、MINK、MAP4K4 均属于 STE-20/MAP4K 家族蛋白<sup>[3,24]</sup>。这些 Rap2 的特异下游效应因子并无 RA 结构域, 而是通过它们的 CNH 结构域(citron homology domain)与 Rap2 相互作用<sup>[20]</sup>。

MAP4K4、MINK、TNIK 均属于 STE-20 蛋白家族生发中心激酶(GCK)组中第 4 亚家族<sup>[24]</sup>。MAP4K4 激酶通过应答细胞外信号调控转录、细胞骨架组装以及细胞周期的进展。MAP4K4、MINK、TNIK 均拥有 N 端的激酶结构域以及 C 端的 CNH 结构域, 其 CNH 结构域在三者间同源性超过 80%; 同时它们还含有同源性较低的拥有卷曲螺旋结构域的插入区域<sup>[3,24]</sup>。MAP4K4 (又叫 HGK, hepatocyte progenitor kinase/germinal center kinase-like kinase)。HGK 定位在细胞质中, 在肿瘤细胞系中广泛存在且在肿瘤组织中高表达。HGK 可通过调节生长因子以及整联蛋白调节细胞转化、促进细胞侵袭、降低细胞

的粘附<sup>[24]</sup>。MAP4K4 还能调控 JNK 信号途径(c-Jun N-terminal kinase signaling pathway)且独立于 AP-1 介导的转录。GTP-Rap2 通过其效应因子结构域与 MAP4K4 的 CNH 结构域结合, 增强 MAP4K4 对 JNK 的激活能力, 最终导致细胞的运动及侵袭能力增强, 体外实验结果表明沉默 MAP4K4 能导致细胞侵袭能力的下降<sup>[3,25]</sup>。TNIK 也是 STE-20 家族的成员。TNIK 能与接头蛋白 Nck 结合<sup>[19]</sup>。Nck 是酪氨酸激酶调控的细胞骨架重排中的一种重要分子。TNIK 通过其 CNH 结构域与 Rap2 的效应因子结构域相互作用<sup>[3]</sup>。TNIK 通过其激酶活性诱导肌动蛋白纤维解聚从而抑制细胞的铺展。Rap2 通过与 TNIK 相互作用增强 TNIK 的生物学功能, 同时还能促进 TNIK 的自磷酸化、将 TNIK 转位到细胞骨架。MINK 是 STE-20 家族中的一员, 能通过其 CNH 结构域与 Rap2 的效应因子结构域结合。MINK 及 TNIK 的结合诱导 TANC1 蛋白的磷酸化<sup>[2]</sup>, 而 Rap2 能增强 MINK 及 TNIK 对 TANC1 的催化能力。TANC1 是突触后密度蛋白, 可能与 AMPA 受体有相互作用关系。Rap2 通过促进 AMPA 受体的移出长效抑制神经元突触兴奋功能。Rap2 活性的增强能强化神经元的突触型抑制<sup>[1,2,26]</sup>。

PARG1 广泛存在于人心脏组织、骨骼及组织中, 是一类能与蛋白酪氨酸磷酸酶 PTPL1 结合, 同时对 Rho 蛋白具有 GAP 活性的分子<sup>[1]</sup>, 能通过其 N 端 ZPH 区(ZK6691a and PARG1 homology region)与活化的 GTP-Rap2 的效应因子结构域结合<sup>[14]</sup>, Rap2 与 PARG1 结合能抑制 PARG1 的活性。Rap2 还能通过 PARG1 抑制酪氨酸激酶信号通路。

RPIP8 是以 Rap2A 的活性化突变体为诱饵进行酵母双杂交筛选从鼠的脑组织 cDNA 基因库中得到的<sup>[27]</sup>。已知 RPIP8 主要分布于脑组织、胰脏的  $\beta$  细胞中, 通过 N 端 RUN 结构域与活性化的 Rap2 效应因子结构域结合。人 RPIP8 的同源蛋白 RPIP9 在乳腺癌上皮恶性转化中被激活并且在向侵袭表型演进中表达增强<sup>[28]</sup>, 因此推测 RPIP9 与乳腺癌的发生密切相关, 而关于 Rap2 与 RPIP9 相互作用是否与肿瘤恶性转化相关尚不清楚。

## 3 Rap2 的生物学功能

### 3.1 Rap2 参与非洲爪蟾(Xenopus)的背轴发育

在非洲爪蟾早期发育中, XRap2 的过表达和沉默均可诱导胚胎发育异常; 其中 XRap2 在腹部的过表达

导致腹轴背化,形成双背体轴,而其在胚胎早期动物极的RNA干扰沉默导致头部缺失和体轴的短缩,因此X $\text{Rap}2$ 在爪蟾背轴特化中是必须的<sup>[29]</sup>。 $\text{Rap}2$ 对爪蟾背轴形成特化的调节是通过作用于Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路来完成的, $\text{Rap}2$ 的过表达可诱导XWnt-8靶基因的表达增强,而 $\text{Rap}2$ 的表达沉默可抑制XWnt靶基因的诱导, $\text{Rap}2$ 对Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路的调控依赖于对 $\beta$ -连环蛋白稳定性的调节,而 $\beta$ -连环蛋白稳定性与Dsh在细胞内正确的定位相关, $\text{Rap}2$ 可促进Dsh细胞膜转位,从而促进 $\beta$ -连环蛋白的稳定性。X $\text{Rap}2$ 的沉默导致Dsh的亚细胞定位异常并最终导致 $\beta$ -连环蛋白的稳定性丧失,抑制Wnt/ $\beta$ -连环蛋白靶基因的表达<sup>[29]</sup>。有报道显示 $\text{Rap}1$ 对于非洲爪蟾的早期胚胎发育也是必须的, $\text{Rap}1$ 信号途径的失活导致原肠发育异常和前后轴的短缩, $\text{Rap}1$ 作用于Wnt-8的下游,然而 $\text{Rap}1$ 对 $\beta$ -连环蛋白信号途径并无影响,也不诱导 $\beta$ -连环蛋白靶基因的表达<sup>[30]</sup>。尽管 $\text{Rap}1$ 与 $\text{Rap}2$ 都是Wnt信号途径的调节因子影响爪蟾的早期发育,二者可能通过不同的下游信号通路来完成对Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路的调节。

### 3.2 $\text{Rap}2$ 参与神经突触可塑性调节

神经突触可塑性是神经系统发育和高级神经活动的基础<sup>[31]</sup>, $\text{Ras}$ 和 $\text{Rap}$ 调控神经突触可塑性的形成, $\text{Ras}$ 与 $\text{Rap}$ 在突触传递中的功能是相互拮抗的, $\text{Ras}$ 调节依赖于NMDA受体与记忆形成相关的海马神经元突触兴奋性长期增强(LTP)<sup>[32]</sup>,而 $\text{Rap}1$ 与 $\text{Rap}2$ 促进海马神经元长期抑制(LTD)<sup>[7,33]</sup>, $\text{Ras}$ 介导NMDA受体激活的ERK1/2的活性从而促进AMPA受体向突触转运并增强兴奋时间和强度,而 $\text{Rap}1$ 与 $\text{Rap}2$ 的过表达可抑制Ras-ERK途径,促进AMPA受体转运出突触,并最终导致神经突触兴奋的抑制<sup>[26]</sup>,其中 $\text{Rap}2$ 的作用可能通过JNK信号途径介导来完成<sup>[26]</sup>。表达 $\text{Rap}2$ 活化突变体的转基因小鼠海马神经元表现出缩短的树突侧棘(dendritic spine)及增强的LTD,空间学习能力障碍及恐惧记忆消失的异常<sup>[7,33]</sup>。体外实验也显示 $\text{Rap}2$ 活化突变体在海马锥体神经元的表达抑制轴突和树突的长度与复杂性,导致树突侧棘和侧棘突触的消失,而组成型活化的 $\text{Rap}1$ 则对树突和轴突的表型没有显著影响,因此 $\text{Rap}1$ 及 $\text{Rap}2$ 对突触传递具有相似的功能,而对轴突和树突表型的影响各异<sup>[7,33]</sup>。

### 3.3 $\text{Rap}2$ 与细胞粘附和运动

细胞骨架是细胞粘附和细胞运动的基础,发生恶

性转化的细胞常常发生细胞骨架结构和组装功能的紊乱<sup>[34,35]</sup>。 $\text{Rap}2$ 效应因子中MAP4K4、TNIK与PARG均与细胞骨架形态调控相关,MAP4K4的RNA干扰实验证明MAPK4K的沉默能导致多种肿瘤细胞系迁移能力下降<sup>[25]</sup>。同时,MAP4K4缺失小鼠在其早期发育中也出现神经嵴的迁移障碍<sup>[36]</sup>。因此, $\text{Rap}2$ 可能通过MAP4K4调节细胞粘附及其侵袭能力。在NIH3T3细胞中TNIK及PARG的表达能诱导细胞微丝紊乱、抑制细胞铺展,而 $\text{Rap}2$ 与TNIK的共表达能促进TNIK抑制细胞铺展的能力,导致细胞变圆,相反 $\text{Rap}2$ 能抑制PARG1诱导的NIH3T3细胞变圆和串珠状分支结构的形成。因此, $\text{Rap}2$ 可能通过TNIK与PARG1调节细胞微丝骨架的组装<sup>[14]</sup>。PARG1具有RhoGAP活性,可通过抑制Rho蛋白活性改变微丝组装<sup>[37]</sup>,然而 $\text{Rap}2A$ 是否通过对PARG1活性的调节影响Rho的活性从而改变细胞微丝骨架的组装尚不清楚。在HSB-2 T细胞中 $\text{Rap}2$ 调节细胞随机运动, $\text{Rap}2$ 的沉默可抑制细胞随机运动,而不影响细胞粘附作用, $\text{Rap}2$ 对T细胞运动的调节可能由 $\text{RapL}$ 介导<sup>[21]</sup>。尽管 $\text{Rap}1$ 也与 $\text{RapL}$ 相互作用,并调节B细胞及T细胞极性、促进细胞趋化运动<sup>[38]</sup>,然而 $\text{Rap}1$ 及 $\text{Rap}2$ 在淋巴细胞粘附及运动中的功能可能不同,因为在HSB-2细胞中, $\text{Rap}1$ 的沉默或活性增强并不影响细胞的随机运动,相反 $\text{Rap}1$ 促进细胞的粘附作用<sup>[21]</sup>。

在人类多核中性粒细胞(PMN)中,纤粘连蛋白与 $\beta$ -整联蛋白( $\beta$ -integrin)的结合诱导 $\text{Rap}1$ 及 $\text{Rap}2$ 的膜转位和活化水平升高,二者的活化进一步促进了细胞 $\beta$ -整联蛋白依赖性的生物学功能<sup>[39,40]</sup>,包括外来刺激物诱导产生的氧化猝发、细胞粘附以及细胞迁移。在B细胞中, $\text{RapGAP}II$ 的表达能抑制抗IgG抗体、PMA以及SDF-1诱导的 $\text{Rap}1$ 及 $\text{Rap}2$ 的活化及细胞-细胞外基质、细胞间的粘附,降低PMA诱导的细胞微丝骨架的聚合,而 $\text{Rap}2$ 活化突变体 $\text{Rap}2V12$ 的表达则促进整联蛋白与细胞外基质ICAM-1、VCAM-1的结合。 $\text{Rap}1$ 诱导细胞粘附的机制早已被认识,在特定细胞中 $\text{Rap}2$ 似乎能够单独促进细胞粘附和铺展<sup>[40,41]</sup>。

### 3.4 $\text{Rap}2$ 与癌症相关性

在不同组织来源细胞中,基因的功能可能不同,尽管在NIH3T3细胞中 $\text{Rap}1$ 可抑制癌基因 $\text{Ras}$ 诱导的细胞转化,在Swiss3T3细胞中 $\text{Rap}1$ 诱导细胞转化表型的形成<sup>[42]</sup>。 $\text{Rap}2$ 除调节非洲爪蟾早期发育、神

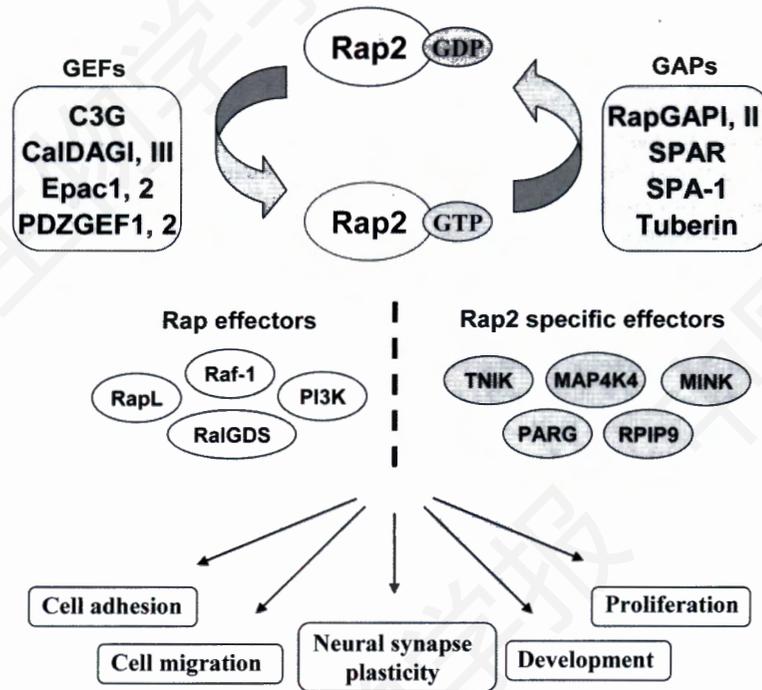


Fig.2 Rap2 signaling pathway and biological functions

经突起的形态和神经突触可塑性形成外,在 B 细胞与 T 细胞中 Rap2 参与细胞粘附及运动的调控。同时,最近有报道显示 Rap2 与肿瘤的形成及恶性演进具有相关性, Rap2 的下游效应因子 RPIP9 基因在乳腺癌中活性化升高,且其活性与乳腺癌的恶性转移密切相关<sup>[31]</sup>,而 Rap2 另一下游效应因子 MAP4K4 在多种肿瘤组织中高表达,其活性化与肿瘤的侵袭及转移相关<sup>[25,43]</sup>,此外, Rap2 的过表达能增强前列腺癌细胞系 LNCaP 对雄性激素的敏感性,促进雄性激素介导的癌细胞生长,相反, Rap2 的 RNAi 沉默能特异地抑制细胞的生长<sup>[44]</sup>。Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号途径与结肠癌及肾癌的发生呈正相关性<sup>[45]</sup>,而来自非洲爪蟾发育的研究结果显示 Rap2 能够增强  $\beta$ -连环蛋白的稳定性和核转位从而促进 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号途径<sup>[29]</sup>,上述研究强烈提示在多种组织来源的肿瘤细胞中 Rap2 可能具有转化和肿瘤恶性演进促进作用,其作用详细机制有待阐明。

#### 4 问题与展望

Rap2 与 Rap1 在序列及结构上的相似性赋予了二者相似的调控因子及下游途径,而 Rap2 特异信号途径的发现提示它们在功能上可能存在精细的分工和协同作用,而这种作用的实现需要精细的调控,细胞如何通过 Rap2 及 Rap1 活性的调节完成对各种信号的整合和传递将是今后有待明确的重要问题。作

为小分子量 G 蛋白家族一员, Rap2 独特的生物学特性主要包括: Rap2 的亚细胞定位主要集中在细胞膜及内膜系统; Rap2 在静息细胞内的活性化水平超过 50%。 Rap2 生物学功能的多样性也正在得到越来越多的研究和关注, Rap2 通过调控 AMPA 受体的转运影响神经突触兴奋的强度及时间从而调节神经突触可塑性的形成, Rap2 通过对 Wnt 信号途径的调控参与调节非洲爪蟾背轴特化,最近有报道显示 Rap2 与细胞恶性转化及肿瘤形成相关,其作用的信号途径有待于进一步研究阐明。今后,将会有越来越多 Rap2 所参与调控的生物学功能被发现和阐明,而其作用机制的阐明离不开其相互作用蛋白的分离和鉴定,尤其在特定内外条件下 Rap2 相互作用蛋白的鉴定对理解其在各种生命活动的作用机制是必不可少的。综上所述对 Rap2 功能的深入研究将对理解个体发育、细胞分化、细胞增殖及细胞运动等多种生命活动的分子基础提供新的见解。

#### 参考文献(References)

- 1 Lundquist EA. Small GTPases. WormBook 2006: 1-18.
- 2 Mitin N, Rossman KL, Der CJ. Signaling interplay in Ras superfamily function. Curr Biol 2005; 15(14): R563-74.
- 3 Machida N, Umikawa M, Takei K, Sakima N, Myagmar BE, Taira K, et al. Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4 as a putative effector of Rap2 to activate the c-Jun N-terminal kinase. J Biol Chem 2004; 279(16): 15711-4.

- 4 Paganini S, Guidetti GF, Catricala S, Trionfini P, Panelli S, Balduini C, *et al.* Identification and biochemical characterization of Rap2C, a new member of the Rap family of small GTP-binding proteins. *Biochimie* 2006; 88(3-4): 285-95.
- 5 Kooistra MR, Dube N, Bos JL. Rap1: a key regulator in cell-cell junction formation. *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 1): 17-22.
- 6 Kitayama H, Sugimoto Y, Matsuzaki T, Ikawa Y, Noda M. A ras-related gene with transformation suppressor activity. *Cell* 1989; 56(1): 77-84.
- 7 Ryu J, Futai K, Feliu M, Weinberg R, Sheng M. Constitutively active Rap2 transgenic mice display fewer dendritic spines, reduced extracellular signal-regulated kinase signaling, enhanced long-term depression, and impaired spatial learning and fear extinction. *J Neurosci* 2008; 28(33): 8178-88.
- 8 Pizon V, Chardin P, Lerosey I, Olofsson B, Tavitian A. Human cDNAs rap1 and rap2 homologous to the Drosophila gene Dras3 encode proteins closely related to ras in the 'effector' region. *Oncogene* 1988; 3(2): 201-4.
- 9 Ohmstede CA, Farrell FX, Reep BR, Clemetson KJ, Lapetina EG. RAP2B: a RAS-related GTP-binding protein from platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87(17): 6527-31.
- 10 Farrell FX, Ohmstede CA, Reep BR, Lapetina EG. cDNA sequence of a new ras-related gene (rap2b) isolated from human platelets with sequence homology to rap2. *Nucleic Acids Res* 1990; 18(14): 4281.
- 11 Mollinedo F, Perez-Sala D, Gajate C, Jimenez B, Rodriguez P, Lacal JC. Localization of rap1 and rap2 proteins in the gelatinase-containing granules of human neutrophils. *FEBS Lett* 1993; 326(1-3): 209-14.
- 12 Beranger F, Tavitian A, de Gunzburg J. Post-translational processing and subcellular localization of the Ras-related Rap2 protein. *Oncogene* 1991; 6(10): 1835-42.
- 13 Ohba Y, Mochizuki N, Matsuo K, Yamashita S, Nakaya M, Hashimoto Y, *et al.* Rap2 as a slowly responding molecular switch in the Rap1 signaling cascade. *Mol Cell Biol* 2000; 20(16): 6074-83.
- 14 Myagmar BE, Umikawa M, Asato T, Taira K, Oshiro M, Hino A, *et al.* PARG1, a protein-tyrosine phosphatase-associated RhoGAP, as a putative Rap2 effector. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 329(3): 1046-52.
- 15 Wright LP, Philips MR. Thematic review series: lipid post-translational modifications. CAAX modification and membrane targeting of Ras. *J Lipid Res* 2006; 47(5): 883-91.
- 16 Bos JL. Ras-like GTPases. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1333(2): M19-31.
- 17 Tanaka S, Morishita T, Hashimoto Y, Hattori S, Nakamura S, Shibuya M, *et al.* C3G, a guanine nucleotide-releasing protein expressed ubiquitously, binds to the Src homology 3 domains of CRK and GRB2/ASH proteins. *Proc Natl Acad Sci US A* 1994; 91(8): 3443-7.
- 18 Kuiperij HB, de Rooij J, Rehmann H, van Triest M, Wittinghofer A, Bos JL, *et al.* Characterisation of PDZ-GEFs, a family of guanine nucleotide exchange factors specific for Rap1 and Rap2. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1593(2-3): 141-9.
- 19 Taira K, Umikawa M, Takei K, Myagmar BE, Shinzato M, Machida N, *et al.* The Traf2- and Nck-interacting kinase as a putative effector of Rap2 to regulate actin cytoskeleton. *J Biol Chem* 2004; 279(47): 49488-96.
- 20 Nonaka H, Takei K, Umikawa M, Oshiro M, Kuninaka K, Bayarjargal M, *et al.* MINK is a Rap2 effector for phosphorylation of the postsynaptic scaffold protein TANC1. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 377(2): 573-8.
- 21 Miertzschke M, Stanley P, Bunney TD, Rodrigues-Lima F, Hogg N, Katan M. Characterization of interactions of adapter protein RAPL/Nore1B with RAP GTPases and their role in T cell migration. *J Biol Chem* 2007; 282(42): 30629-42.
- 22 Christian SL, Lee RL, McLeod SJ, Burgess AE, Li AH, Dang-Lawson M, *et al.* Activation of the Rap GTPases in B lymphocytes modulates B cell antigen receptor-induced activation of Akt but has no effect on MAPK activation. *J Biol Chem* 2003; 278(43): 41756-67.
- 23 York RD, Yao H, Dillon T, Ellig CL, Eckert SP, McCleskey EW, *et al.* Rap1 mediates sustained MAP kinase activation induced by nerve growth factor. *Nature* 1998; 392(6676): 622-6.
- 24 Wright JH, Wang X, Manning G, LaMere BJ, Le P, Zhu S, *et al.* The STE20 kinase HGK is broadly expressed in human tumor cells and can modulate cellular transformation, invasion, and adhesion. *Mol Cell Biol* 2003; 23(6): 2068-82.
- 25 Collins CS, Hong J, Sapinoso L, Zhou Y, Liu Z, Micklash K, *et al.* A small interfering RNA screen for modulators of tumor cell motility identifies MAP4K4 as a promigratory kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(10): 3775-80.
- 26 Zhu Y, Pak D, Qin Y, McCormack SG, Kim MJ, Baumgart JP, *et al.* Rap2-JNK removes synaptic AMPA receptors during depotentiation. *Neuron* 2005; 46(6): 905-16.
- 27 Janoueix-Lerosey I, Pasheva E, de Tand MF, Tavitian A, de Gunzburg J. Identification of a specific effector of the small GTP-binding protein Rap2. *Eur J Biochem* 1998; 252(2): 290-8.
- 28 Raguz S, De Bella MT, Slade MJ, Higgins CF, Coombes RC, Yague E. Expression of RPIP9 (Rap2 interacting protein 9) is activated in breast carcinoma and correlates with a poor prognosis. *Int J Cancer* 2005; 117(6): 934-41.
- 29 Choi SC, Han JK. Rap2 is required for Wnt/beta-catenin signaling pathway in *Xenopus* early development. *EMBO J* 2005; 24(5): 985-96.
- 30 Tsai IC, Amack JD, Gao ZH, Band V, Yost HJ, Virshup DM. A Wnt-CKIvarepsilon-Rap1 pathway regulates gastrulation by modulating SIPA1L1, a Rap GTPase activating protein. *Dev Cell* 2007; 12(3): 335-47.
- 31 Krubitzer L. In search of a unifying theory of complex brain evolution. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1156: 44-67.
- 32 Zhu JJ, Qin Y, Zhao M, Van Aelst L, Malinow R. Ras and Rap control AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity. *Cell* 2002; 110(4): 443-55.
- 33 Fu Z, Lee SH, Simonetta A, Hansen J, Sheng M, Pak DT. Differential roles of Rap1 and Rap2 small GTPases in neurite retraction and synapse elimination in hippocampal spiny neurons. *J Neurochem* 2007; 100(1): 118-31.
- 34 Zimmermann A, Keller HU. Locomotion of tumor cells as an element of invasion and metastasis. *Biomed Pharmacother* 1987; 41(6): 337-44.
- 35 Berrier AL, Mastrangelo AM, Downward J, Ginsberg M,

- LaFlamme SE. Activated R-ras, Rac1, PI 3-kinase and PKCepsilon can each restore cell spreading inhibited by isolated integrin beta1 cytoplasmic domains. *J Cell Biol* 2000; 151(7): 1549-60.
- 36 Xue Y, Wang X, Li Z, Gotoh N, Chapman D, Skolnik EY. Mesodermal patterning defect in mice lacking the Ste20 NCK interacting kinase (NIK). *Development* 2001; 128(9): 1559-72.
- 37 Saras J, Franzen P, Aspenstrom P, Hellman U, Gonez LJ, Heldin CH. A novel GTPase-activating protein for Rho interacts with a PDZ domain of the protein-tyrosine phosphatase PTPL1. *J Biol Chem* 1997; 272(39): 24333-8.
- 38 Katagiri K, Maeda A, Shimonaka M, Kinashi T. RAPL, a Rap1-binding molecule that mediates Rap1-induced adhesion through spatial regulation of LFA-1. *Nat Immunol* 2003; 4(8): 741-8.
- 39 Dib K, Axelsson L, Andersson T. Beta2 integrins target Rap GTPases to the plasma membrane by means of degranulation. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 376(4): 642-6.
- 40 Jenei V, Deevi RK, Adams CA, Axelsson L, Hirst DG, Andersson T, *et al.* Nitric oxide produced in response to engagement of beta2 integrins on human neutrophils activates the monomeric GTPases Rap1 and Rap2 and promotes adhesion. *J Biol Chem* 2006; 281(46): 35008-20.
- 41 McLeod SJ, Shum AJ, Lee RL, Takei F, Gold MR. The Rap GTPases regulate integrin-mediated adhesion, cell spreading, actin polymerization, and Pyk2 tyrosine phosphorylation in B lymphocytes. *J Biol Chem* 2004; 279(13): 12009-19.
- 42 Yoshida Y, Kawata M, Miura Y, Musha T, Sasaki T, Kikuchi A, *et al.* Microinjection of smg/rap1/Krev-1 p21 into Swiss 3T3 cells induces DNA synthesis and morphological changes. *Mol Cell Biol* 1992; 12(8): 3407-14.
- 43 Liang JJ, Wang H, Rashid A, Tan TH, Hwang RF, Hamilton SR, *et al.* Expression of MAP4K4 is associated with worse prognosis in patients with stage II pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2008; 14(21): 7043-9.
- 44 Bigler D, Gioeli D, Conaway MR, Weber MJ, Theodorescu D. Rap2 regulates androgen sensitivity in human prostate cancer cells. *Prostate* 2007; 67(14): 1590-9.
- 45 Guillen-Ahlers H. Wnt signaling in renal cancer. *Curr Drug Targets* 2008; 9(7): 591-600.

## The Biological Functions of Rap2 Signaling Pathway

Choon Boon Sim, Zhong-Jiang Gao, Shu-Liang Shi\*

(Department of Life Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, China)

**Abstract** Rap2 belongs to the Rap subfamily of Ras superfamily small GTPase-binding proteins along with Rap1. Base on over 60% of identity in amino acid sequence between Rap1 and Rap2, Rap2 was speculated to have the signaling pathway similar to Rap1, mediating biological functions including regulation of cell proliferation, differentiation, cell adhesion and cytoskeleton rearrangement. However the 39th amino acid of Ser which located at the effector domain of Ras and Rap1 is substituted by Phe in Rap2. This difference indicates that Rap2 may have specific biological functions other than Rap1 through specific downstream signaling pathways. With the identification of Rap2-specific effectors, more attentions are paid to Rap2-specific signaling pathways and biological functions. Rap2 regulates diversity of biological processes including neuronal synaptic plasticity and dorsal-ventral specification of the early development of *Xenopus*, besides modulating cell adhesion and cytoskeleton reorganization, In addition, a correlation between Rap2 and various cancers had been reported in several latest researches. Here we present a latest progress on the signaling pathway and the biological functions of Rap2.

**Key words** Rap2; effectors; signaling pathway; biological function; cancer

Received: June 5, 2009 Accepted: December 28, 2009

This work was supported by the Start-up Funds for Excellent Talent of Harbin Institute of Technology

\*Corresponding author. Tel: 86-451-86412863, E-mail: liangss@hit.edu.cn