

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.01.013

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2016.01.013>

· 综述 ·

双向调节蛋白与肿瘤的相关性研究进展

汪莉 综述 吴焕文, 梁智勇 审校

(中国医学科学院, 北京协和医学院, 北京协和医院病理科, 北京 100730)

[摘要] 双向调节蛋白(amphiregulin, AREG)参与机体生理性发育及肿瘤病理性演进过程, 特别是在肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移、侵袭等方面有着重要的调控作用。越来越多的研究结果表明, AREG的表达与肿瘤病人的预后及药物疗效预测相关。本文就AREG的结构、功能及在肿瘤发生发展中的相关研究作一综述。

[关键词] 双向调节蛋白; 表皮生长因子受体; 肿瘤

The role of amphiregulin in human cancer

WANG Li, WU Huanwen, LIANG Zhiyong

(Department of Pathology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100730, China)

Abstract Amphiregulin (AREG) is involved in the process of physiological development and tumor pathological evolution, especially plays an important regulatory role on tumor cells proliferation, apoptosis, migration and invasion. An increasing number of studies showed that the expression of AREG is associated with the prognosis of cancer patients and drug curative effect prediction. In this paper, we reviewed the structure, function and the various roles of AREG and in tumorigenesis.

Keywords amphiregulin (AREG); epidermal growth factor receptor (EGFR); cancer

双向调节蛋白(amphiregulin, AREG)作为表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)配体家族成员之一, 最早被发现参与乳腺发育及肿瘤病理性演进过程。近年来相关研究表明, AREG通过激活相应受体EGFR及下游Ras/MAPK、PI3K/AKT、PLC γ 和STAT等多条信号通路在肿瘤增殖、凋亡、侵袭等过程有着重要的调控作用。AREG在血液及组织中的高表达有助于肿瘤早期的诊断、靶向药物疗效预测及患者预后评判。

1 AREG 的结构及 AREG/EGFR 信号通路

1988年, Shoyab^[1]首次从经豆蔻酰佛波醇乙酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)处理的人乳腺癌细胞系MCF-7无血清条件培养基中分离出一种单链高亲水性糖蛋白, 由于其同时具有抑制人癌细胞系生长及促进人成纤维细胞生长这两种截然不同的功能, 因此被命名为双向调节蛋白。

AREG基因位于人4q13.3, AREG基因转录生

收稿日期 (Date of reception): 2015-12-03

通信作者 (Corresponding author): 梁智勇, Email: liangzhiyong1220@yahoo.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金项目资助(31471366)。This work was supported by National Natural Science Foundation of China (31471366).

成含有6个外显子的1.4 kb AREG mRNA, AREG mRNA翻译后形成由252aa构成的跨膜糖蛋白前体(pro-AREG)。pro-AREG在解聚素金属蛋白酶(disintegrin and metalloproteinase, ADAM)家族成员ADAM-17的作用下,使得AREG蛋白在Lys187位点剪切使胞外功能区脱落(ectodomain shedding),释放生成84aa长的可溶性AREG蛋白^[2-3]。此外,Pro-AREG还可以通过选择性剪切生成不同大小的可溶性活化AREG蛋白^[4-5]。可溶性AREG蛋白具有亲水性N-糖基化肝素结合结构域的N端和具有上皮生长因子样结构域的C端。由于能够和EGF竞争性结合EGFR,因而AREG被划为分EGFR配体家族中的一员^[6]。

Kasina等研究^[7]表明, CXCL-12/CXCR4信号通路可以通过Src依赖的途径激活ADAM-10,促进Pro-AREG发生胞外区脱落释放可溶性AREG,从而活化EGFR促进细胞增殖,说明CXCL-12可能是AREG/EGFR信号通路重要的上游调节因子。AREG与EGFR结合后,促进EGFR形成同源二聚体或与ErbB2、ErbB3、ErbB4等其它EGFR家族成员形成异源二聚体,二聚体形成后使得EGFR胞内酪氨酸激酶结构域发生自磷酸化,继而激活Ras/MAPK、PI3K/AKT、PLC γ 和STAT等下游多条信号通路^[8-10]。AREG/EGFR经由这些细胞内信号通路的介导,调节相关基因的表达,最终影响细胞增殖、存活、侵袭、迁移以及血管生成等生物学过程。

2 AREG 和肿瘤

早期研究^[1]发现,AREG不但可以促进人成纤维细胞的生长分化,而且还具有抑制正常上皮细胞和侵袭性乳腺癌细胞系的生长,因而得名双向调节蛋白。AREG和EFG、TGF- α 类似,可以通过自分泌、旁分泌和/或近旁分泌^[10-12]介导肿瘤细胞自身或与基质细胞相互作用,通过激活下游多条信号通路,从而促进肿瘤细胞自身生长、存活、侵袭与迁移,促进肿瘤的发生与发展。越来越多的研究显示,AREG主要是以致癌因子的身份在发挥作用。

2.1 AREG 对肿瘤细胞增殖和凋亡的影响

大量研究^[8-12]证实,AREG在包括乳腺癌、卵巢癌、子宫颈癌、结肠癌、肺癌、肝癌、胃癌、前列腺癌、骨肉瘤等一系列肿瘤组织与细胞中表达上调。LEE等通过对乳腺增生扩大性小叶单位(hyperplastic enlarged lobular units, HELUs)的研究^[13]

发现,和正常乳腺终末导管小叶单位(terminal duct lobular units, TDLUs)相比HELUs ER α 表达升高,并且TELUs AREG表达量显著性升高,提示AREG与乳腺组织细胞异常增殖有关。Bordoli等研究^[14]发现在乳腺癌MCF-7细胞中上调抑癌基因PHD2的表达会抑制细胞生长,抑制MCF-7细胞PHD2的表达使AREG、VEGF、IL-8的转录水平上调,AREG的转录由缺氧诱导转录因子(hypoxia-inducible transcription factors, HIF)HIF-2调控,收集PHD2敲低细胞上清培养内皮细胞能促进导管形成,加入AREG中和抗体能阻断导管形成,说明PHD2/HIF-2/AREG信号通路可能在乳腺导管发生中起一定作用。

与乳腺组织不同,AREG在正常肝组织中不表达,而在急、慢性肝损伤和肝癌组织中表达上调。Ahn等在研究^[15]中发现,和慢性肝炎/肝硬化病人相比,肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)抑癌基因Ras相关结构域家族蛋白1A(ras association domain family 1 isoform A, RASSF1A)表达下调,同时AREG表达上调。RASSF1A能够通过活化Hippo通路抑制Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)和AREG的表达,从而诱导肝细胞癌细胞凋亡,抑制细胞增殖。Chen等在黏液表皮样癌(mucoepidermoid carcinoma, MEC)的研究^[16]中发现,CRTC1-MAML2融合基因通过活化转录因子CREB上调AREG的表达,肿瘤细胞通过自分泌AREG活化EGFR,从而促进介导肿瘤细胞生长和存活,利用siRNAs敲低AREG表达和使用抗EGFR抗体可以抑制MEC细胞的生长或存活,降低H3118 MEC细胞裸鼠移植瘤的成瘤率。Busser等^[17]发现AREG高表达的非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)H358细胞对吉西他滨介导的细胞凋亡作用不敏感,通过敲低H358细胞AREG表达可逆转其对吉西他滨的敏感性。随后, Busser^[18]发现AREG能够阻碍肿瘤相关DNA双链断裂修复(DNA double-strand-break repair, DSB)蛋白Ku70乙酰化,从而抑制BAX活化产生抵抗吉西他滨诱导的细胞凋亡作用。

2.2 AREG 对肿瘤细胞迁移、侵袭和的影响

细胞间黏附性改变是肿瘤细胞侵袭和转移的基础。YAP是Hippo通路的重要效应器和转录共激活因子, YAP能诱导乳腺癌MCF10A细胞分泌AREG,用siRNA下调AREG表达后,下游通路ERK1/2和AKT磷酸化水平下调,可显著性降低MCF10A细胞迁移率,说明AREG作为Hippo通路

YAP下游的直接靶标介导的乳腺癌细胞增殖和迁移^[19]。YAP表达和子宫颈癌病人不良预后相关, TGF- α 、AREG通过和EGFR相结合, 抑制Hippo信号通路并且活化YAP, YAP活化后能够通过上调TGF- α 、AREG和EGFR的表达而形成一个自分泌环, 从而促进子宫颈癌细胞的增殖和迁移^[9]。骨肉瘤是一种高度恶性的间质性肿瘤, 容易发生远处骨转移。Liu^[10]等在对骨肉瘤的研究中发现, AREG与EGFR结合后激活下游PI3K/Akt信号通路上调细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)的表达, 使得骨肉瘤细胞的迁移能力增强; 体外实验研究表明, 敲除AREG表达能够降低骨肉瘤的转移率。

E-cadherin的表达减少是肿瘤细胞获得去分化和高侵袭性的关键之一, AREG能够增强卵巢癌SKOV3细胞ERK1/2和AKT通路磷酸化, 从而使E-cadherin表达下调, 卵巢癌的侵袭力增加^[20]。转录因子HOXB9在乳腺癌中高表达能够上调血管生成因子VEGF、bFGF和AREG的表达, 促进肿瘤肺转移^[21]。虽然许多体外实验证实AREG参与肿瘤的迁移和远处转移, 但AREG在肿瘤复杂微环境中的确切作用还需要在更多的体外、体内实验中得到验证。

2.3 AREG 在肿瘤耐药机制中的作用

放射治疗和化学药物治疗是肿瘤治疗的重要手段, 肿瘤细胞产生对放疗抵抗和化疗药物的耐药性是导致肿瘤细胞的残留和疾病复发的重要因素之一。Ogawa等^[22]通过X光照射使胰腺癌PK-1、PK-8、PK-9、T3M4和MiaPaCa-2细胞系产生放疗抵抗, 通过对获得放疗抵抗前后细胞寡核苷酸芯片比对和qRT-PCR证实, 胰腺癌细胞产生放疗抵抗后, 细胞系中AREG表达上调。Toulany等研究^[23]表明肿瘤细胞K-RAS突变会使细胞AREG自分泌表达量增加, 从而活化EGFR激活下游PI3K-AKT通路导致细胞放疗抵抗。通过对顺铂耐药的乳腺癌MCF-7细胞研究, 发现EGFR和ERK1磷酸化水平上调且AKT1激酶活性增高, JNK和p38 MAPK介导MAPK信号通路失活, 同时p53信号失活, BCL-2表达上调, 通过基因芯片和RT-PCR发现顺铂耐药的乳腺癌MCF-7细胞中AREG表达选择性升高, 运用siRNAs敲低AREG表达能够逆转MCF-7的耐药表型^[24]。依西美坦耐药乳腺癌ExeR细胞中AREG高表达, ExeR细胞依西美坦耐药可能和AREG激活EGFR和MAPK从而促进细胞增殖有关^[25]。

3 AREG 作为肿瘤标记物的作用

3.1 AREG 作为预后因子的作用

有关AREG在组织与血液中的表达量与肿瘤病人预后的相关研究很多, 但是目前尚未得到统一的观点。通过对88例胰腺导管腺癌R0期切除手术标本免疫组化的研究发现, 表达AREG、MMP-9和MMP-2的病人的中位OS分别是(AREG+: 2月 vs. AREG-: 16月, $P=0.03$)、(MMP-9+: 24月 vs. MMP-9-: 13月, $P=0.06$)和(MMP-2+: 22月 vs. MMP-2-: 37月, $P=0.04$), 结果显示免疫组化AREG阴性和MMP阳性病人预后较差, 同时胰腺导管腺癌R0期手术病人p-c-met或VEGF高免疫活性更容易发生肿瘤早期远处转移^[26]。Addison等做的一项回顾性研究^[27]表明, NSCLC病人血AREG水平和预后呈负相关, 血AREG高表达的病人机体状态差且对铂类药物不敏感, 同时病人血TGF- α 高表达预示病人对厄洛替尼治疗获益有限。在一项评价XELOX(奥沙利铂、卡培他滨)方案联合或间断配伍厄洛替尼治疗转移性结肠癌的随机对照实验中发现, XELOX方案联合厄洛替尼间断用药对病人具有更好的疗效, 在治疗3~4个周期后, 血清AREG和TGF- α 水平下降与更短的无进展生存期和总生存期相关^[28]。HCC病人血清AREG表达水平和病人Edmondson分期及血清甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)相关, 说明血清AREG有可能成为诊断肝细胞癌的潜在分子标志物^[29]。

3.2 AREG 在靶向治疗药物使用疗效中的预测作用

EGFR信号通路失调(包括细胞表面EGFR高表达, 自分泌持续激活和/或突变)与许多恶性上皮性肿瘤的发生发展相关。包括针对EGFR酪氨酸激酶抑制剂(厄洛替尼), 抗EGFR单克隆抗体(西妥昔单抗)和抗-HER2抗体(曲妥珠单抗)等在内的一系列靶向药物现已广泛应用于临床治疗。尽管靶向治疗已经得到越来越广泛的临床应用, 但提示靶向治疗疗效的相关检测指标范围仍有待拓展。

与吉西他滨治疗敏感的AREG低表达肺腺癌H322细胞相比, 吉西他滨治疗耐药肺腺癌H358细胞的AREG表达水平较高, 用siRNAs下调H358细胞AREG表达水平, 可以逆转H358细胞对吉西他滨治疗耐药, 提示AREG表达水平升高的NSCLC病人对于EGFR TKI治疗不敏感^[17]。Takahashi等进行的一项临床研究^[30]中发现, K-RAS野生型转移性结肠癌患者接受抗EGFR抗体治疗后出现皮肤毒性的严重程度和患者的生存期呈正相关, 病人血清

HGR、EREG和AREG表达水平和皮肤毒性等级呈负相关,提示血清HGR、EREG和AREG水平可以作为皮肤毒性等级的潜在预测因子,用于提升转移性结直肠癌病人接受抗EGFR抗体治疗后皮肤毒性管理和患者生存期预测。

4 展望

随着对AREG分子研究的不断深入和抗肿瘤治疗的个体化靶向治疗时代的发展,AREG有可能成为肿瘤早期诊断、靶向药物疗效预测及患者预后评判的生物学标志物中的一员,同时也极具潜力成为肿瘤治疗过程中的潜在靶点之一。AREG/EGFR信号通路将为肿瘤的预防和治疗提供新的思路。

参考文献

- Shoyab M, McDonald VL, Bradley JG, et al. Amphiregulin: a bifunctional growth-modulating glycoprotein produced by the phorbol 12-myristate 13-acetate-treated human breast adenocarcinoma cell line MCF-7[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, 85(17): 6528-6532.
- Duffy MJ, McKiernan E, O'Donovan N, et al. Role of ADAMs in cancer formation and progression[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(4): 1140-1144.
- Levano KS, Kenny PA. Clarification of the C-terminal proteolytic processing site of human Amphiregulin[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(19): 3500-3502.
- Brown CL, Meise KS, Plowman GD, et al. Cell surface ectodomain cleavage of human amphiregulin precursor is sensitive to a metalloprotease inhibitor. Release of a predominant N-glycosylated 43-kDa soluble form[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(27): 17258-17268.
- Löfmark S, de Klerk N, Aro H. Neisseria gonorrhoeae infection induces altered amphiregulin processing and release[J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e16369.
- Shoyab M, Plowman GD, McDonald VL, et al. Structure and function of human amphiregulin: a member of the epidermal growth factor family[J]. *Science*, 1989, 243(4894 Pt 1): 1074-1076.
- Kasina S, Scherle PA, Hall CL, et al. ADAM-mediated amphiregulin shedding and EGFR transactivation[J]. *Cell Prolif*, 2009, 42(6): 799-812.
- Berasain C, Avila MA. Amphiregulin[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 28: 31-41.
- He C, Mao D, Hua G, et al. The Hippo/YAP pathway interacts with EGFR signaling and HPV oncoproteins to regulate cervical cancer progression[J]. *EMBO Mol Med*, 2015, 7(11): 1426-1449.
- Liu JF, Tsao YT, Hou CH. Amphiregulin enhances intercellular adhesion molecule-1 expression and promotes tumor metastasis in human osteosarcoma[J]. *Oncotarget*, 2015, (38): 40880-40895.
- Carnet O, Lecomte J, Masset A, et al. Mesenchymal Stem Cells Shed Amphiregulin at the Surface of Lung Carcinoma Cells in a Juxtacrine Manner[J]. *Neoplasia*, 2015, 17(7): 552-563.
- Nam SO, Yotsumoto F, Miyata K, et al. Warburg effect regulated by amphiregulin in the development of colorectal cancer[J]. *Cancer Med*, 2015, 4(4): 575-587.
- Lee S, Medina D, Tsimelzon A, et al. Alterations of gene expression in the development of early hyperplastic precursors of breast cancer[J]. *Am J Pathol*, 2007, 171(1): 252-262.
- Bordoli MR, Stiehl DP, Borsig L, et al. Prolyl-4-hydroxylase PHD2- and hypoxia-inducible factor 2-dependent regulation of amphiregulin contributes to breast tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2011, 30(5): 548-560.
- Ahn EY, Kim JS, Kim GJ, et al. RASSF1A-mediated regulation of AREG via the Hippo pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(7): 748-758.
- Chen Z, Chen J, Gu Y, et al. Aberrantly activated AREG-EGFR signaling is required for the growth and survival of CRTC1-MAML2 fusion-positive mucoepidermoid carcinoma cells[J]. *Oncogene*, 2014, 33(29): 3869-3877.
- Busser B, Sancey L, Josserand V, et al. Amphiregulin promotes BAX inhibition and resistance to gefitinib in non-small-cell lung cancers[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(3): 528-535.
- Busser B, Sancey L, Josserand V, et al. Amphiregulin promotes resistance to gefitinib in nonsmall cell lung cancer cells by regulating Ku70 acetylation[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(3): 536-543.
- Zhang J, Ji JY, Yu M, et al. YAP-dependent induction of amphiregulin identifies a non-cell-autonomous component of the Hippo pathway[J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(12): 1444-1450.
- So WK, Fan Q, Lau MT, et al. Amphiregulin induces human ovarian cancer cell invasion by down-regulating E-cadherin expression[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(21): 3998-4007.
- Hayashida T, Takahashi F, Chiba N, et al. HOXB9, a gene overexpressed in breast cancer, promotes tumorigenicity and lung metastasis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(3): 1100-1105.
- Ogawa K, Utsunomiya T, Mimori K, et al. Differential gene expression profiles of radioresistant pancreatic cancer cell lines established by fractionated irradiation[J]. *Int J Oncol*, 2006, 28(3): 705-713.
- Toulany M, Baumann M, Rodemann HP. Stimulated PI3K-AKT signaling mediated through ligand or radiation-induced EGFR depends indirectly, but not directly, on constitutive K-Ras activity[J]. *Mol Cancer Res*, 2007, 5(8): 863-872.
- Eckstein N, Servan K, Girard L, et al. Epidermal growth factor receptor pathway analysis identifies amphiregulin as a key factor for cisplatin resistance of human breast cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(2): 739-750.

25. Wang X, Masri S, Phung S, et al. The role of amphiregulin in exemestane-resistant breast cancer cells: evidence of an autocrine loop[J]. Cancer Res, 2008, 68(7): 2259-2265.
26. Park JK, Kim MA, Ryu JK, et al. Postoperative prognostic predictors of pancreatic ductal adenocarcinoma: clinical analysis and immunoprofile on tissue microarrays[J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(8): 2664-2672.
27. Addison CL, Ding K, Zhao H, et al. Plasma transforming growth factor alpha and amphiregulin protein levels in NCIC Clinical Trials Group BR.21[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(36): 5247-5256.
28. Ma BB, Chan SL, Ho WM, et al. Intermittent versus continuous erlotinib with concomitant modified "XELOX" (q3W) in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: correlation with serum amphiregulin and transforming growth factor alpha[J]. Cancer, 2013, 119(23): 4145-4153.
29. Han SX, Bai E, Jin GH, et al. Expression and clinical significance of YAP, TAZ, and AREG in hepatocellular carcinoma[J]. J Immunol Res, 2014, 2014: 261365.
30. Takahashi N, Yamada Y, Furuta K, et al. Association between serum ligands and the skin toxicity of anti-epidermal growth factor receptor antibody in metastatic colorectal cancer[J]. Cancer Sci, 2015, 106(5): 604-610.

本文引用: 汪莉, 吴焕文, 梁智勇. 双向调节蛋白与肿瘤的相关性研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(1): 71-75. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.01.013

Cite this article as: WANG Li, WU Huanwen, LIANG Zhiyong. The role of amphiregulin in human cancer[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2016, 36(1): 71-75. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.01.013